اثر پرتودهی گاما روی رشد کالوس و باززایی غیر مستقیم گیاه نسترن از طریق کشت بافت

سارا معلم*[۱] ماندانا بهبهانی[۲]، الهام السادات موسوی[۳].

دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه پیام نور تهران[۱] ،استادیاردانشکده بیوتکنولوژی دانشگاه اصفهان[۲]،
دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی دانشگاه آزاد کرج[۳]

* نویسنده مسئول: **سارا معلم**، دانشگاه پیام نور تهران، sara- moallem@yahoo.com

چکیده

نسترن گیاه زینتی از خانواده Rosaceae است که بعنوان پایه برای ارقام رز بکار میرود. این تحقیق به منظور بررسی کشت درون شیشه ای گیاه نسترن در جهت تعیین بهترین محیط کشت و ترکیب هورمونی انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل با طرح پایه کاملا تصادفی در ۳ تکرار انجام شد. ریزنمونه ها پس از ضدعفونی شدن بر روی محیط های MS و B_5 با غلظت های مختلف هورمون های IAA و NAA منتقل شدند. بیشترین وزن کالوس در محیط B_5 با یک میلی گرم بر لیتر IAA بدست آمد. سپس کالوس ها به منظور باززایی غیرمستقیم به محیط MS که شامل هورمون های KIN در ترکیب با NAA، IAA و GA_3 و همچنین BAP در ترکیب با IAA، NAA وGA_3 بود، انتقال یافتند که در هیچکدام از محیط های استفاده شده باززایی صورت نگرفت. کالوس های القا شده در برابر تابش دزهای مختلف اشعه گاما قرار گرفتند. پرتو گاما اثری بر اندام زایی نداشت.

واژگان کلیدی: کشت بافت، هورمون، گیاه نسترن، اشعه گاما، کالوس

مقدمه

نسترن با نام علمی *Rosa Canina*، گیاهی از خانواده گل سرخ Rosaceae می باشد. جنبه زینتی آن در فضای سبز درخور توجه بوده و در اغلب اوقات به عنوان پایه مقاومی برای رزهای زینتی مورد استفاده قرار می گیرند. روش تکثیر متداول گیاه نسترن از طریق کاشت بذر و قلمه است. تکثیر آن از طریق روش های سنتی با مشکلاتی مانند زمان بر بودن همراه می باشد. استفاده از تکنیک کشت بافت منجر به تولید گیاهان عاری از بیماری با کیفیت یکنواخت، تکثیر انبوه و صرفه جویی در زمان می شود (قاسمی قهساره،۱۳۸٤).

ریز نمونه ها پس از شستشو با آب ابتدا به مدت 40 ثانیه با الکل ۷۰٪ و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد ضدعفونی شدند، سپس با آب مقطر دوبار استریل شده شستشو دادیم. برای تولید کالوس ریزنمونه ها در محیط کشت پایه B_5 و MS حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر هورمون IAA و ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر هورمون NAA قرار داده شدند. وزن ترکالوس ثبت شد. به منظور تحریک اندام زایی ، کالوس های حاصل به محیط کشت MS منتقل شدند، که شامل ترکیب هورمونی ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA (T_1) ، ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IAA (T_2)، ۱/۵ میلی گرم بر لیتر BAP + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر GA_3 (T_3)، ۱/۵ میلی گرم بر لیتر KIN + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA (T_4)، ۱/۵میلی گرم بر لیتر KIN + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IAA (T_5) و ۱/۵ میلی گرم بر لیتر KIN + ۰/۵ میلی گرم بر لیتر GA_3 (T_6) بود، تغییرات حاصل در کالوس ها ثبت شد. کالوس هایی که درمحیط های (T_4) و (T_5)رشد کرده بودند، در معرض پرتو دهی قرار گرفتند. پرتوتابی با استفاده از امکانات سازمان انرژی اتمی مرکز کرج انجام گرفت. هر شیشه در فاصله معینی از چشمه شامل ۳۰، ٤۰، ۵۰ و ٦۰ گری پرتو تابی شدند. آزمایشها بصورت فاکتوریل با طرح پایه تصادفی در سه تکرار به اجرا در آمد. نتایج مختلف هر آزمایش با استفاده از نرم افزار MSTAT تجزیه شد.

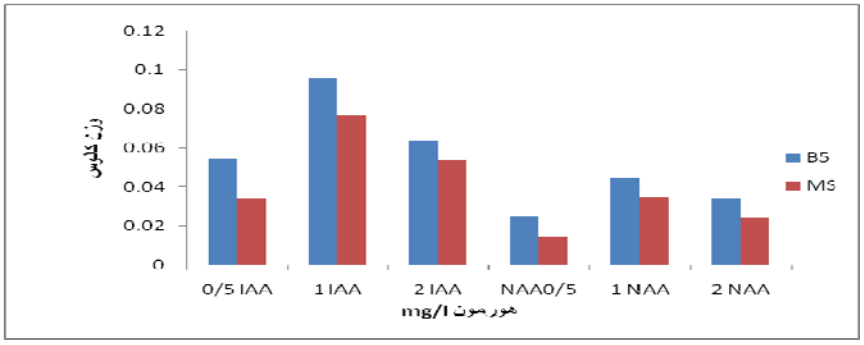
نتیجه گیری و بحث

با توجه به داده های جدول شماره ۱ نتایج بدست آمده در آزمایش نشان داد که در هر دو محیط کشت MS و B5 کالوس زایی انجام شد، ولی وزن کالوس در محیط B5 بیشتراز محیط MS بود. این نتایج مطابق با نظر اکننکول و الیس بود که دلیل رشد کمتر در محیط MS را غلظت بالای نمک های آمونیوم در این محیط می دانند، که بازدارنده کشت بافت بعضی گیاهان می باشد(Ellis &Eknankul, ۱۹۸۵). آورامیس و همکاران نیز گزارش کردند که در گونه های مختلف رز نرخ تکثیر با کاهش آمونیوم محیط افزایش می یابد(Avramis, *et al*, 1982). پس از انتقال کالوس ها به محیط های اندام زایی غیر مستقیم ، در محیط (T_1) و محیط (T_2) اندازه کالوس ها تا ٤ هفته پس از انتقال تغییری نکرد و هیچ گونه اندام زایی در آنها صورت نگرفت. همچنین در محیط (T_4) و (T_5) با وجود اینکه اندازه کالوس ها به تدریج از آغاز هفته اول افزایش یافت، اندام زایی رخ نداد. در محیط (T_3) و نیز محیط (T_6)، یک هفته پس از انتقال کالوس ها شروع به نکروزه شدن کردند و در پایان هفته دوم کاملا از بین رفتند. لیوید و همکاران نیز در طی آزمایشهای خود گزارش کردند که در برخی از ارقام گل رز مانند رقم های *R. laevigata* و *R. wichuriiana* نیز اندام زایی از بافت کالوس صورت نگرفت(Lioyd, *et al*, 1988). اندازه کالوس هایی که در برابر تابش دزهای مختلف اشعه گاما قرار گرفتند، تغییری نکرد و هیچ گونه اندام زایی در آن ها صورت نگرفت. این نتایج مطابق با یافته های ناصریان و همکاران بود. آنها در طی تحقیقات خود گزارش کردند که پرتو گاما، ظرفیت کالوس زایی و باززایی کشت بساک در چند رقم گندم بهاره را کاهش داد (ناصریان خیابانی و همکاران، ۱۳۸٦).

میانگین مربعات

منابع تغییرات	درجه آزادی	وزن ترکالوس(mg) در محیط MS	وزن ترکالوس(mg) در محیط B5
نوع هورمون	۱	۰.۰۰۴۲**	۰.۰۰۶۱**
غلظت هورمون	۲	۰.۰۰۱۴**	۰.۰۰۱۵**
غلظت هورمون * نوع هورمون	۲	۰.۰۰۰۱**	۰.۰۰۰۳**

** : معنی‌دار در سطوح احتمال 5 درصد



نمودار ۱- اثرغلظت های مختلف هورمونهای IAA و NAA بر وزن تر کالوس در محیطهای MS,B5

منابع

۱- قاسمی قهساره مسعود . کافی محسن. ۱۳۸٤ . گلکاری علمی و عملی ، انتشارات گلبن . جلد اول

۲- ناصریان خیابانی بهنام . فتح الهی هادی . ودادی سیروس . موسوی میراحمد. ۱۳۸٦ . تعیین دز مناسب پرتو گاما به منظور ایجاد تنوع ژتنیکی در گیاه نخود.مجله علوم و فنون هسته ای. ٤۲ ، ۱۹-۲۵

3- Avramis T. Hugard J. Jonard R.1982. La multiplication in vitro du Rosier porte-greffe Rosa indica major. C R acad sci paris. 294-63-80

٤- Eknankul D. Ellis B.E. 1985. Effect of auxins and cytokinins on growth and rosmarinicacid formation in cell suspension cultures of Archuisa officinals. Plant Cell Reports. 50-53

٥- Lloyd D. Roberts A.V. Short K.C. 1988. The induction in vitro of adventitious shoots in Rosa . Euuphytica.37, 31-36

Effect of gamma radiation on callus induction and indirect regeneration of *rosa canina*

Sara Moallem[1*], Mandana Behbahani,[2]Elham sadat Mousavi[3]
Tehran Payamnoor University[1], Fculty of Biotechnology Isfahan University[2]
Islamic Azad University Branch Karaj[۳]

*** Corresponding E-mail address: sara- moallem@yahoo.com**

Abstract:
Dog rose *(Rosa canina)* is an ornamental member of family Rosaceae. It is an important rootstock for other cultivars of Rose. This study was conducted to evaluate the effect of media and adding hormones on *in vitro* regeneration of this plant by using a completely randomized design and factorial experiment. Callus was formed and grew well in B_5 medium containing 1 mg/l IAA under the dark condition. In order to indirect regeneration, callus was transferred in B_5 medium supplemented with KIN in combination with NAA, IAA, GA_3 or BAP in combination with NAA, IAA, and GA_3. These treatments have no ability to organogenesis. The effect of γ- radiation on callus was studied. There was no significant effect of radiation on organogenesis.

Keywords: *Rosa canina*, Tissue culture, Hormones, gamma radiation