



بررسی اثر ریزقلمه و نسبت هورمونی در القاء باززایی مستقیم در رقم محلی خاتونی خربزه

زهرا چنارانی^{۱*}، فرهاد شکوهیفر^۲، مجتبی مرآبادی^{۳۴}، ناصر فرخی^۱

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی دانشگاه صنعتی شاهرود، z.chenarani@gmail.com
 ۲. عضو هیات علمی دانشگاه فردوسی مشهد
 ۳. عضو هیات علمی گروه کیاپریشکی دانشگاه فردوسی مشهد
 ۴. عضو هیات علمی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی شاهرود

چکیده:

خربزه یکی از گیاهان جالیزی اقتصادی بشمار می‌رود که سطح زیر کشت قابل توجهی را در استان خراسان به خود اختصاص داده است. بکارگیری تکنیکهای نوین در سرعت بخشیدن به برنامههای اصلاحی میتواند در جبران کاستیهای گذشته نقش مهمی ایفاء نماید. رقم خاتونی به عنوان یکی از ارقام محلی بازارپسند میتواند به عنوان یک رقم پایه در برنامه اصلاحی مورد توجه قرار گیرد. در این مطالعه اثر دو فاکتور ریزقلمه و محیط کشت با هدف بهینه‌سازی شرایط باززایی مستقیم در رقم خاتونی بررسی شد. جوانه جانبی انتهای برگهای کوتیلدونی و حقیقی و دو محیط کشت M1 (حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP) و محیط M2 (حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP + ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA) کشت شد. ریزقلمه کوتیلدونی در مقایسه با ریزقلمه برگ حقیقی باززایی بیش تری نشان داد. محیط کشت M1 در هر دو ریزقلمه ساقه‌زائی را القاء نمود، در حالی که در محیط M2 هر دو ریزقلمه تنها ریشه‌زایی نمودند و ساقه‌زایی مشاهده نشد. این نتایج حاکی از آن بود که مقادیر اندکی از هورمون NAA از باززایی مستقیم ریز نمونه‌ها جلوگیری نموده و ریشه‌زائی را در هر دو ریزقلمه مورد استفاده القاء نمینماید.

کلمات کلیدی: خربزه، باززایی مستقیم، ریزقلمه، هورمونهای گیاهی

مقدمه:

خربزه Cucumis melo L. متعلق به خانواده Cucurbitaceae است و به دلیل دگرگردناهشانی و عمر طولانی گل از تنوع بالایی برخوردار است. اقلیم مناسب کشت این گیاه نواحی گرمسیری و نیمه‌گرمسیری است. ایران بعد از چین و ترکیه سومین کشور تولید کننده خربزه است که استانهای خراسان، سمنان و خوزستان به ترتیب بالاترین میزان عملکرد در هکتار را به خود اختصاص می‌دهند (FAO). رقم خاتونی جزء ارقام ایرانی است که علاوه بر اهمیت اقتصادی، از نظر کیفیت و طعم ارزش بالایی دارد و بیش ترین سطح زیر کشت را در ایران به خود اختصاص میدهد (۵).

تولید گیاهان مقاوم به تنشهای زیستی و غیرزیستی و یا گیاهانی با صفات زراعی ارزشمند همواره در برنامه‌های اصلاحی مورد توجه بوده است با این وجود معرفی آنها با روش‌های اصلاح کلاسیک از طریق تلاقی بسیار زمانبر و پرhzینه خواهد بود و علاوه بر آن سبب انتقال طیف وسیعی از صفات غیرمطلوب به رقم موردنظر خواهد شد از سوی دیگر وجود مشکلات و محدودیتهای تلاقی بین‌گونهای و بینجنسی کارائی استفاده از روش‌های کلاسیک را کم نموده است. این محدودیتها استفاده از از تکنیکها و ابزارهای جدیدی را مورد توجه قرار داده است. مهندسی ژنتیک امکان بدست آوردن یک ژن خاص را از منابع حیاتی خارج از گونه گیاهی مورد نظر ممکن نموده است. ارائه تکنیکهای انتقال ژن، وارد نمودن یک ژن جدید را در گیاه هدف ممکن ساخته است. به منظور انتقال یک ژن جدید به گیاه بررسی شرایط کشت بافت و بهینه سازی روش القاء باززائی مستقیم اهمیت بالائی دارد. اثر ریزقلمهای تهیه شده از بافت‌های مختلف خربزه مانند ریزقلمهای کوتیلدونی و یا برگ حقیقی مورد مطالعه قرار گرفته است (۴). بررسی ترکیبات هورمونی نیز نشان داده است که غلظتها متفاوت هورمونهای NAA و BAP در باززایی خربزه اثرات متفاوتی اعمال مینمایند. با توجه به ارزش زراعی و اقتصادی رقم خاتونی در استان خراسان در این مطالعه با هدف بهینه‌سازی شرایط باززائی مستقیم، اثرات نوع اکسپلنت و سطوح هورمونی مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روشها:

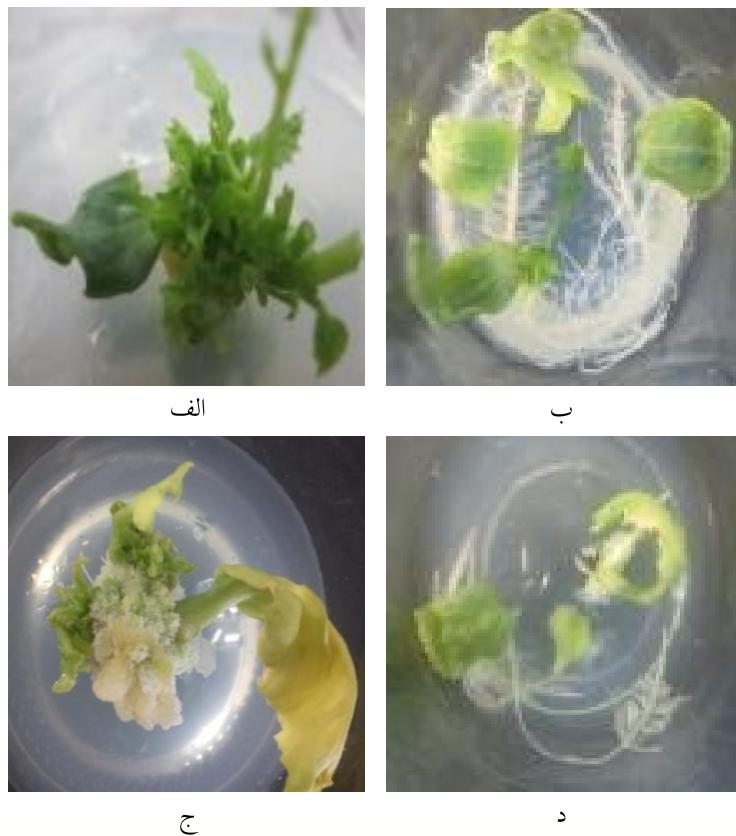
مواد گیاهی: بذور رقم خاتونی با کد MSC0008 از بانک بذر پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد. به منظور تهیه گیاهچه استریل، بعد از حذف پوسته، بذور با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪/۰ به مدت ۲۰ دقیقه ضدغونی سطحی و سه بار آبشوبی با آب مقطر استریل روی محیط MS با ۳۰ گرم در لیتر ساکاراز و ۷ گرم در لیتر آگار کشت شدند و نمونه‌ها در اتاقک رشد در دمای 23 ± 2 درجه سانتیگراد، فتوپریود نوری ۱۶ ساعت نگهداری شدند. دو فاکتور ریزقلمه با دو سطح (برگ کوتیلدونی و برگ حقیقی) و محیط کشت پایه MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکاراز و ۷ گرم در لیتر آگار با دو ترکیب هورمونی (محیط M1: حاوی ۵ میلی گرم در لیتر BAP و محیط M2: حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP + ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA) با ۳ تکرار در ۴ مرحله زمانی تکرار شد. در هر دو محیط کشت از نمکهای MS پایه، ویتامینهای B5، ۳ گرم در لیتر ساکاراز و ۷ گرم در لیتر آگار استفاده شد. ساقه‌های باززاشده به محیط کشت MS غنی شده با ۰/۱ میلی گرم در لیتر BAP جهت طویل شدن منتقل شدند. به منظور القاء ریشه‌زایی ساقه‌های طویل شده به محیط MS غنی شده با ۱۱٪/۰ میلیگرم در لیتر NAA منتقل شدند. همه کشتها در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و ۱۶ ساعت فتوپریود نوری نگهداری شدند. به منظور سازگاری گیاهان رشد کرده در شرایط آزمایشگاهی با شرایط محیطی، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده آبشوئی شد و درون گلدانهای گیاهان نسبت مساوی پیت: پرلیت: ورمی کولیت منتقل شد. روی گلدانها نایلون شفاف پوشانده شد و در شرایط دمایی ۲۵ درجه سانتیگراد و فتوپریود نوری ۱۶ ساعت نگهداری شد. پس از ۴۸ ساعت گیاهچه‌ها با ایجاد منافذی در پوششها و حذف تدریجی آن با شرایط محیط سازگار شدند.



نتایج و بحث:

در این مطالعه اثر دو فاکتور ریزقلمه و محیط کشت با هدف بهینهسازی شرایط باززائی مستقیم در این رقم مورد توجه قرار گرفت. بدین منظور جوانه جانبی انتهای برگهای کوتیلدونی از گیاهچههای ۱۰ روزه و برگهای حقیقی از گیاهچههای یک ماهه در شرایط استریل تهیه و در دو محیط کشت M1 (حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP) و محیط M2 (حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP + ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA) کشت شد.

نتایج تفاوت آشکاری را میان نوع ریز نمونه و همچنین اثر محیط کشت ظاهر نمود (شکل ۱). تعداد ریزساقههای باززائی شده از ریزقلمه برگ کوتیلدونی بیشتر از برگ های حقیقی بود (شکل ۱: الف و ج). در محیط M1 در هر دو نوع ریزقلمه، ساقه زایی مشاهده شد (شکل ۱-الف و ب). در محیط M1 ریزقلمههای کوتیلدونها و برگها یک هفته پس از کشت واکنش نشان دادند. نمونههای کوتیلدونی پس از گذشت ۴ هفته و در برگهای حقیقی پس از گذشت ۶ هفته ریزساقه ها مشاهده شدند. در محیط M2 اندازایی بصورت رشد و توسعه ریشه نمایان شد (شکل ۱-ج و د).



شکل ۱: مقایسه اثر ریزقلمه و نوع محیط کشت در القاء ساقه زایی در رقم خاتونی

الف و ج: محیط کشت M1. ب و د: محیط کشت M2. ریزقلمه جوانه جانبی برگ کوتیلدونی (الف و ب)، برگ حقیقی (ج و د)

ریزقلمه کوتیلدونی در مقایسه با ریزقلمه برگ حقیقی باززائی بیشتری نشان داد. محیط کشت M1 در هر دو ریزقلمه ساقه‌زائی را القاء نمود، در حالی که در محیط M2 هر دو ریزقلمه تنها ریشه‌زایی نمودند و ساقه‌زایی مشاهده نشد. این نتایج حاکی از آن بود که مقادیر اندکی از هورمون NAA از باززائی مستقیم ریز نمونه‌ها جلوگیری نموده و ریشه‌زایی را در هر دو ریزقلمه مورد استفاده القاء می‌نماید.

ریزساقه‌ها یک هفته پس از باززائی به خوبی از محل میانگره قابل جداسازی بود و با گذشت دو هفته روی محیط طویل شدن به اندازه کافی جهت انتقال به محیط ریشه‌زایی رشد نمودند. محیط ریشه‌زایی با سطح ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA طی مدت دو هفته به خوبی ریشه‌زایی را القاء نمود و پس از گذشت ۱ ماه از باززائی، گیاهچه‌های کامل جهت انتقال به گلدان مهیا شدند (شکل ۲: گیاهچه باززائی شده در گلدان).

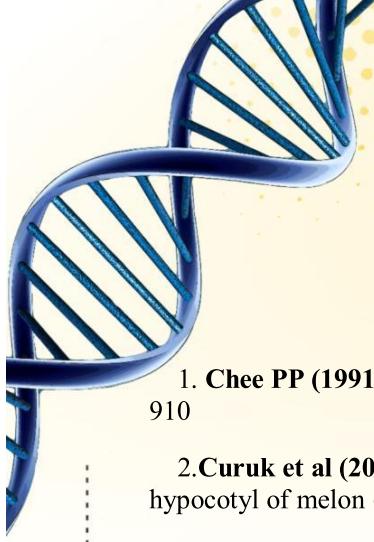


شکل ۲: گیاهچه کامل، باززائی شده از ریزقلمه برگ کوتیلدونی ۱ ماه پس از باززائی

نتایج این مطالعه نشان داد ریزقلمه کوتیلدونی در مقایسه با ریزقلمه برگ حقیقی از قدرت باززائی بالاتری برخوردار است و محیط کشت M1 نیز جهت القاء باززائی مستقیم در ریز قلمه‌های مشابه مناسب می‌باشد. در مجموع میتوان برای آزمایشات تكمیلی بکارگیری ریزقلمه برگ کوتیلدونی محیط کشت M1 را توصیه نمود. هرچند به نظر میرسد سطوح دیگری از هورمون BAP نیز در آزمایشات تکمیلی قابل بررسی باشد.

سپاسگزاری:

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی و مدیریت محترم پژوهشکده علوم گیاهی که فضای آزمایشگاهی لازم را جهت اجرای این تحقیق مهیا نمودند صمیمانه تشکر می‌نماییم.



برخی از منابع:

1. Chee PP (1991). Plant regeneration from cotyledons of *Cucumis melo Topmark'* HortScience 26:908-910
2. Curuk et al (2002). A novel pathway for rapid shoot regeneration from the proximal zone of the hypocotyl of melon *Cucumis melo L.*. In Vitro Cell Dev Biol-Plant 38:260–267
3. Fernanda et al (2006). Morfogenetic Response of Cotyledon and leaf Explant of melon
4. Niedz et al (1989). Factors influencing shoot regeneration from cotyledonary explants of *Cucumis melo*. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 18:313-319
5. Salehi et al (2010). Leaf Gas Exchanges and Mineral Ion Composition in Xylem Sap of Iranian Melon Affected by Rootstocks and Training Methods HortScience, 45(5): 766-770

**Study the effects of explant and medium types in direct regeneration induction in melon
(*Cucumis melo L.*, cv. *Khatooni*)**

Chenarani, Z¹ . Shokouhifar, F². Mamarabadi, M^{3,4}. Farrokhi, N⁴

1. Master student in Biotechnology, Shahrood University of Technology
2. Plant science research institute, Ferdowsi University of Mashhad
3. Department of plant Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi university of Mashhad
4. Faculty of Agriculture, Shahrood University of Technology

E-mail: Z.CHENARANI@GMAIL.COM

Abstract:

One of the main crops of Khorasan province in terms of dedicated land to its cultivation is Melon (*Cucumis melo L.*). Khatooni, one of many varieties of melon, can be considered as a breeding cultivar because of its great qualitative traits including sweetness and flavor. Here, the effects of explant type and medium were considered to optimize the regeneration condition of melon (cv. Khatooni). The explants types were; lateral buds of cotyledon and the true leaves, which the cotyledon leaves demonstrated better regeneration efficiency. MI with 0.5 mg.l⁻¹ BAP and M2 with 0.5 mg.l⁻¹ BAP + 0.01 mg.l⁻¹ NAA were the chosen media. Both explants showed to have greater shoot regeneration in MI and better rooting in M2. Thus, application of little NAA inhibits direct regeneration of explants and leads to root regeneration.