نهمین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین‌المللی فیزیولوژی گیاهی
9th National and 1st International Conference of Plant Physiology
۲۷-۲۹ بهمن ۱۴۰۴، دانشگاه گیلان

# بررسی اثر تنظیم کننده های رشد در کشت بساک گیاه آهار (*Zinnia elegans*)

**رضا نقی پور[۱]، لیلا خدائی*[۲] و اصغر میرزائی اصل[۱] ، محمدرضا عبداللهی[۱]**
۱ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
۲ گروه کشاورزی، دانشکده فنی مهندسی، دانشگاه پیام نور، تهران- رایانامه: lkhodaei@pnu.ac.ir)

## چکیده

گیاه آهار (*Zinnia elegans*) یک گل زینتی پرکاربرد، از خانواده Asteraceae است. کشت بساک یکی از روش‌های دستیابی به گیاهان هاپلوئید به منظور تولید گیاهان دابل هاپلویید می باشد. در این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده های رشد 2,4-Dو بنزیل‌آمینوپورین (BAP) بر کالوس‌زایی و رویان‌زایی گامتی در کشت بساک گیاه آهار مورد بررسی قرار گرفت. گلچه‌هایی با طول ۲/۵-۱/۵ میلی‌متر حاوی میکروسپورهایی در مرحله تک هسته‌ای برای انجام آزمایش انتخاب شدند. کشت در محیط پایه B5 به همراه ۸ گرم در آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز انجام شد. اثر 2,4-D در چهار سطح( صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) به همراه BAP در چهار سطح (صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر در سه تکرار بر روی ژنوتیپ Z7مورد بررسی قرار گرفت. بیش‌ترین میزان رشد کالوس در ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D بدست آمد، همچنین، در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP. بیشترین میزان رویان‌زایی در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-Dو ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. این اولین گزارش موفقیت آمیز کشت بساگ گیاه آهار است. تولید گیاهان هاپلوئید گام موثری در تولید ارقام هیبرید گیاه آهار است.

## مقدمه

یکی از بهترین راه‌ها برای تولید گیاهان هاپلوئید که در سال‌های اخیر به صورت گسترده در سطح تجاری مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد، استفاده از آندروژنز (کشت بساک و کشت میکروسپور) می‌باشد. تاکنون هیچ گزارشی از کشت بساک و تولید گیاه هاپلوئید از گیاهان جنس *Zinnia* در دنیا گزارش نشده است و این نخستین مطالعه و بررسی رویان‌زایی و کالوس‌زایی گیاه آهار از طریق کشت بساک می‌باشد. کشت بساک در گیاهان دیگری از این خانواده انجام گرفته است. کی و همکاران (Qi *et al.*, 2011) فاکتورهای مؤثر بر آندروژنز مانند ژنوتیپ، تیمار سرمایی و تنظیم کننده‌های رشد را بر روی گل جعفری انجام دادند که به باززایی ۲۰ گیاهچه منجر شد که همه‌ی آن‌ها همانند گیاه مادری دیپلوئید بودند. کومار و همکاران (Kumar *et al.*, 2019) نیز از طریق کشت بساک موفق به باززایی ۴۲۶ گیاهچه از گل جعفری شدند که دی‌هاپلوئید، تتراپلوئید و پلی‌پلوئید بودند. در این مطالعه تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده های رشد 2,4-Dو BAP بر کالوس‌زایی و رویان‌زایی گامتی در کشت بساک گیاه آهار مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این پژوهش، بذور گیاه آهار ژنوتیپ Z7در بستر مناسب کشت گردیدند. در مرحله گلدهی. غنچه‌های گل با با طول ۲/۵-۱/۵ میلی‌متر از گیاه مادری جدا شدند. پس از ضدعفونی، بساک‌ها تا زمان کشت، داخل آب مقطر استریل سرد باقی ماندند. بساک‌ها در محیط کاملاً استریل، به نحوی که بافت سوماتیکی دیواره بساک آسیبی نبیند، به وسیله پنس و سوزن از میله پرچم جدا شده و روی محیط کشت پایه B5 به همراه ۸ گرم در لیتر آگارو ۳۰ گرم در لیتر ساکارز قرار داده شدند. در این آزمایش دو هورمون در چهار سطح صفر، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر و هورمون BAP نیز در چهار سطح صفر، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار بر روی ژنوتیپ Z7 مورد بررسی قرار گرفتند.

## نتایج و بحث

با مقایسه میانگین اثر هورمون 2,4-D بر میزان رشد کالوس‌ها مشخص شد که بیش‌ترین میزان رشد کالوس متعلق به سطوح ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D به ترتیب با میانگین قطر کالوس ۳/۸۵ و ۳/۶۵ میلی‌متر بود. کم‌ترین میزان رشد کالوس نیز به تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D با میانگین قطر کالوس ۳/۴ میلی‌متر بود. حضور BAP موجب افزایش میزان رشد کالوس‌ها شده است. در سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP میانگین قطر کالوس‌ها ۴/۰۵ میلی‌متر بود. هرچند تغییر میزان هورمون BAP از ۰/۱ به ۱ میلی‌گرم در لیتر تغییر معنی‌داری در اندازه کالوس ایجاد ننموده است. بیش‌ترین میانگین تعداد رویان به ازای هر بساک به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP اختصاص داشت. کم‌ترین تعداد رویان به ازای هر بساک به تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP تعلق داشت. بررسی اثر سطوح مختلف 2,4-Dو BAPنشان داد که اثر متقابلی میان 2,4-D به همراه BAP در صفت میزان رشد کالوس‌ها در کشت بساک آهار وجود ندارد و با بررسی اثرات ساده مشخص شد که افزایش غلظت هورمون 2,4-D تأثیر معکوس بر روند میزان رشد کالوس‌ها داشت و هرچه میزان 2,4-D افزایش یافت، میزان رشد کالوس‌ها کاهش یافته است. همچنین در تیمارهای دارای 2,4-D و فاقد BAP کالوس‌زایی مشاهده شد، بنابراین به نظر می‌رسد 2,4-D در غلظت‌های کم برای رشد بیش‌تر کالوس‌ها مناسب‌تر است و BAP به تنهایی توان القا کالوس را ندارد. این نتایج با نتایج پژوهش‌های انجام گرفته توسط توسط تنگان و همکاران (Thengane *et al.*,1994) و ژائو و همکاران (Zhao *et al.*, 2006) مطابقت دارد. نتایج مطالعه تنگان و همکاران در زمینه کشت بساک آفتابگردان، افزایش غلظت هورمون 2,4-D باعث کاهش میزان کالوس‌زایی شد. در مطالعه ژائو و همکاران که بر روی کشت بساک سرخارگل انجام شد نیز گزارش گردید که نفتالین استیک اسید در غلظت کم (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) کالوس‌زایی بهتری نسبت به غلظت‌های بالاتر داشت. همچنین با افزایش غلظت BAP از صفر تا ۱ میلی‌گرم در لیتر و از ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر میزان رشد کالوس‌ها در بساک‌ها افزایش یافت. در گزارشی که گائو و همکاران (Gao *et al.*, 2011) در کشت بساک گیاه داودی ارائه نمودند نیز میزان کالوس‌زایی با افزایش BAP در محدوده ۰/۱ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت و در غلظت‌های بالاتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر اثر کاهشی داشت. در تیمارهای فاقد BAP رویان‌زایی مشاهده نشد. تنگان و همکاران با مطالعه بر روی کشت بساک آفتابگردان گزارش کردند که 2,4-D به تنهایی توانایی ایجاد کالوس‌های_رویان‌زا ندارد. همچنین با افزایش غلظت 2,4-D به همراه BAP تعداد کالوس‌های جنین‌زا افزایش یافت. ژائو و همکاران نیز در گیاه سرخارگل گزارش کردند که در تیمارهای فاقد سیتوکینین رویان‌زایی مشاهده نشد و تنها کالوس‌های نرم و آبکی ایجاد شدند.

## منابع

Gao, Y., Chen, B. and Zhang, J. (2011). Anther culture of garden Chrysanthemum. Acta Hortic, 923: 103-110.

Thengane, S.R., Joshi, M.S., Khuspe, S.S. and Mascarenhas, A.E. (1994). Anther culture in *Helianthus annuus* L., influence of genotype and culture conditions on embryo induction and plant regeneration. Plant Cell Reports, 13: 222-226.

Zhao, F., Nilanthi, D., Yang, Y., and Wu, H., (2006). Anther culture and haploid plant regeneration in purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 86:55–62.