بررسی روند تکوینی رویان زایی سوماتیک موز (*Musa acuminate* L.) رقم Vallery

زهرا مرادی [۱]، مسعود شیدایی [۲]، فرح فراهانی [۳]، طاهر نژاد ستاری [۱]

۱ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

۳ گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد قم، قم، ایران

چکیده

موز یکی از گیاهان استراتژیک و اقتصادی است. در تغذیه انسان و دام و اقتصاد کشورهای گرمسیری اهمیت دارد. رقم مورد آزمایش *Vallery* متعلق به گونه‌های *Musa balbisana Colla* و *Musa acuminate Colla* و بخش *Eumusa* و جنس *Musa* می باشد. هدف پروژه بررسی روند تکوینی گیاهان موز باززایی شده از رویان های پیکری رقم والری است. قطعات حاوی مریستم های انتهایی و جانبی برای رویان زایی پیکری استفاده شدند و سه محیط کشت از محیط پایه MS شامل (MS1, BAP 3 mg/l, IAA 2 mg/l)، (MS2, BAP 22.5 mg/l) ، (MS3, BAP 0.4 mg/l , IAA 2 mg/l)) متفاوت برای رویان زایی تهیه شدند. در تیمارهای MS1 و MS3 کالوس مشاهده نشد و ساقه ها از جوانه های انتهایی و جانبی رشد کردند. گیاهچه های تیمار MS1 نسبت به MS3 طول ساقه بلندتر و ریشه کوتاهتر داشتند. در تیمار MS2 روند تکوینی رویان زایی با تشکیل کالوس کرم رنگ ودر بعضی قسمتها قهوه ای با میکروسکوپ استریو قابل مشاهده است، توده های کروی رویانی تشکیل شده و بتدریج افزایش یافته، با تمایز بافتی رنگ سبز در رویانها ظاهر شدند سپس گیاهچه های سبز رنگ کوچک بوجود آمدند. میانگین طول ساقه گیاهچه ها ۳و ریشه نوپدید ۱/۵ سانتی متر، تعداد ساقه ۰/۳۳ و تعداد ریشه ۰/۳ بودند. در تیمار MS4 کالوس های قهوه ایی رنگ غیر متراکم ایجاد شدند. گیاهچه ها از بخشهای مریستمی باززایی کرده، طول ساقه، ریشه نسبت به سایر تیمارها کوتاهتر و تعداد ساقه بیشتر تولید کردند.

کلمات کلیدی : رویان زایی سوماتیک، رقم والری، روند تکوینی

مقدمه

موز یکی از گیاهان استراتژیک و اقتصادی است که نقش بسیار مؤثری در تغذیه انسان و دام و اقتصاد در کشورهای گرمسیری بازی می‌کند. که مصرف سالانه کشور ۶۰۰۰۰۰ هزار تن می باشد و سالانه بطور تصاعدی مصرف آن افزایش می یابد (Nica et al., 2005). برخی از گونه های این تیره ارزش زینتی دارند و برخی گیاهان زراعی با اهمیت اقتصادی هستند. گونه های این تیره علفی بزرگ با پهنک های گسترده در ساقه های کاذب می باشند. برگ های جدید از مریستم نزدیک سطح خاک رشد کرده و از میان سا قه کاذب از یک حلقه بیرون می آیند.

بخش *Eumusa* دارای گونه های *Musa balbisana Colla* و *Musa acuminate Colla* که اجداد بسیاری از ارقام موزهای خوراکی *(Banana)* می باشند.

زیر گروه *Cavandish*: در گروه ژنومی AAA قرار دارند، ۳۰ درصد موز دنیا را تولید می کنند. این زیر گروه را بر اساس ارتفاع گیاه به چهار کلون اصلی طبقه بندی کردند: تیپ های *Dwarf Cavandish*(کوتاه ترین)، تیپ های *Grand Nain*(متوسط)، تیپ های *Giant Cavandish*(بلند تر) و تیپ های *Hijau Pisang Masak*(بلند ترین) هستند. بر حسب صفات ریخت شناسی مانند طول دمبرگ، وجود براکته، درجه بندی خوشه و رنگ ساقه کاذب و نیز سایر صفات مانند سرعت خروج برگها و طول چرخه تولید متفاوت هستند. *Grand Nain* با طول متوسط در مقابل وزش باد مقاوم است، اما نسبت به سایر ارقام *Cavandish* به خشکی حساس می باشد این رقم به تدریج با *Valery* (تیپ *Giant Cavandish*) جایگزین می شود. به طوری که *Valery* عمده ترین رقم در جمعیت برای تجارت بین المللی مناطق گرمسیری است *(*Bairu et al., 2006).

رویان پیکری از لحاظ ریخت شناسی شبیه رویان های تخمی می باشند، رویان زایی پیکری اساس چند توانی سلولی است که مختص گیاهان عالی است .این ویزگی باعث شده است که، رویان زایی پیکری یک مدل برای بررسی حوادث ریختی ، فیزیولوژیکی ، مولکولی و بیوشیمیایی طی شروع ونمو رویان زایی گیاهان عالی باشد.

مواد و روش ها

جهت انجام آزمایش، گیاهان موز (*Musa acuminate* L.) رقم (*Vallery*) ازگلخانه شرکت کشت بافت زرینه روز تأمین شدند **.** گیاهان مورد استفاده در این آزمایش دارای رشد طبیعی بوده وعلائم آلودگی و بیماری در آنها مشاهده نشد. قطعات حاوی جوانه

های انتهایی و جانبی جهت ضدعفونی سطحی بافتهای گیاهی در محلول هیپوکلریت سدیم به همراه 5 تا 6 قطره توئین 20 قرار داده شدند. سپس به منظورحذف اثرات هیپوکلریت سدیم 3 مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند.

محیط های کشت دارای محیط پایه MS (Murashige and Skoog, 1962)حاوی تیمار هورمون با pH= 5/7 آماده شدند.

تیمارها شامل :

MS1 (BAP 3 mg/l, IAA 2 mg/l) (Uma et al., 2011)،

MS2 (BAP 22.5 mg/l) (Schoofs et al., 2005).

MS3 (BAP 0.4 mg/l , IAA 2 mg/l) (Badawy et al., 2005)

ریزنمونه های استریل پس از کشت در تیمارهای مختلف طی ۹ هفته در اتاق رشد تحت دمای 25درجه سانتیگراد وفتوپریود 16/8نگهداری شدند. ابتدا ریزنمونه ها از نظر تولید کالوس و رویان های پیکری در هفته پنجم بررسی شدند و سپس صفات مورفولوژیک تعداد ساقه نوپدید، ریشه نوپدید و طول ساقه و ریشه طی ۴ هفته نهایی اندازه گیری شدند. بررسه های تکوینی گیاهچه های باززایی شده با برش گیری و رنگ آمیزی در زیر میکروسکوپ نوری مطالعه شدند. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS انجام شدند.

نتایج وبحث

بررسی رویان زایی و باززایی طی مدت ۹ هفته کشت

برای کشت نمونه های موز رقم والری برگهای ساقه نما از اطراف آنها جدا شدند و مریستم انتهایی و جانبی نمونه ها بر روی محیط های کشت MS1، MS2 و MS3 قرار داده شدند.

مریستم ها از نظر تولید کالوس رویان زا پس از گذشت ۹ هفته در اتاق کشت مورد بررسی قرار گرفتند. در تیمارهای MS1 و MS3 کالوس مشاهده نشد و ساقه های نوپدید از جوانه های انتهایی و جانبی بوجود آمدند. در تیمار MS2 کالوس های کرم رنگ و متراکم برروی ریزنمونه های مریستمی ظاهر شدند و فرآیند رویان زایی کالوسها، صفات مورفولوژیک و روند سلولی تکوینی گیاهچه های باززایی شده مورد بررسی قرار گرفتند. طبق نظر Albany و همکارانش (۲۰۰۵) صفات مورفولوژیک طول ساقه، ریشه و تعداد ساقه و ریشه بررسی شده است.

در تیمارهای MS1 و MS3 کالوس تشکیل نشد و گیاهچه های نوپدید از مریستم ها باززایی کردند و صفات مورفولوژیک گیاهچه های باززایی شده در پایان هفته نهم بدین صورت بودند (جدول ۱). در تیمار MS1 میانگین طول ساقه نوپدید ۱۲/۳سانتی متر، ساقه و ریشه نوپدید تشکیل نشدند.

در تیمار MS2 کالوس های رویان زا و متراکم تشکیل شدند و طی مدت ۵ هفته انتهایی مراحل رویان زایی انجام شده و گیاهچه های نوپدید بوجود آمدند بخشهای سطحی مریستم ها ابتدا متورم شده، کالوسهای کرم رنگ بر روی قسمتهای سطحی مریستم ها تشکیل شدند و رویان کروی شکل متصل به بافت مشاهده شدند (شکل ۱)، تعداد رویانها بتدریج افزایش یافته و رویان های پیکری نقاط گسترده تری از بافت مریستمی را در برگرفتند. مراحل رویانی با شکل های مشخص تقریبا کروی، کروی کشیده مشاهده شدند. توده های کروی رویانی بر روی کالوسها تشکیل شده است. بتدریج آثاری از تمایز بافتی ظاهر شده و رنگ سبز در رویانها ظاهر شدند. رشد بخشهای سبز رنگ همراه با تمایز ادامه داشت و گیاهچه های سبز رنگ کوچک رشد کردند. صفات مورفولوژیک آنها اندازه گیری شدند (شکل ۱). میانگین طول ساقه نوپدید ۵ سانتی متر و میانگین تعداد ساقه ۰/۲ و ساقه و ریشه نوپدید تشکیل نشدند. Georget و همکارانش (۲۰۰۰) توده های سلولی رویان زا را بر روی کالوس موز رقم Grand naine مشاهده کردند.

در تیمار MS3 میانگین طول ساقه نوپدید ۲/۱ سانتی متر و ریشه و ساقه نوپدید باززایی نشدند.

Chung و همکارانش (۲۰۰۶) با مطلعه اثر pH بر روی رویان زایی ارقام تری پلوئید Pei-Chiao، Robusta و Raja از گل آذین نر موثر تشخیص دادند.

در این تحقیق اولین بار از بافت مریستمی و محیط کشت جامد استفاده شده و نتایج مطلوبی بدست آمده است. Khalil و همکارانش (۲۰۰۴) با استفاده از گلهای نر موز باززایی رویان های پیکری را در محیط کشت مایع و جامد بررسی کرده و محیط کشت مایع را مناسب معرفی کردند.

Uma و همکارانش (۲۰۱۱) از رویان زیگوتی گونه وحشی Pisang Jajee برای رویان زایی استفاده کرده و رویان های پیکری بدست آورده است. هورمون های BAP و IAA استفاده شده و سن و شرایط تولید کالوس را در رویان زا بررسی کرده است.

منابع

Badawy, E.M. , Habib Afaf , M.A., El-Bana, A., Yosry, G.M., 2005. Propagation of date palm (Phoenix dactylifera) plants by using tissue culture technique, Arab J. Biotech., 8: 343-354.

Bairu , M.W., Fennell , C.W., Van Staden ,J. 2006 .The effect of plant growth regulators on somaclonal **v**ariation in Cavendish banana (Musa AAA cv .Zelig).Sci . Hort., 108 :347-351.

Chung, J.P., Chang, T., Chi Æ Chou A.Y., Shii, T., 2006.Triploid banana cell growth phases and the correlation of medium pH changes with somatic embryogenesis in embryogenic cell suspension culture, Plant Cell Tissue Organ Cult., 87:305–314.

Georget, F., Domergue, R., Ferriere, N., Cote, F.X., 2000. Morphohistological study of the different constituents of a banana (Musa AAA, cv. Grand naine) embryogenic cell suspension, Plant Cell Reports, 19: 746-754.

Murashig, T., Skoog. F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant, 15: 473-497.

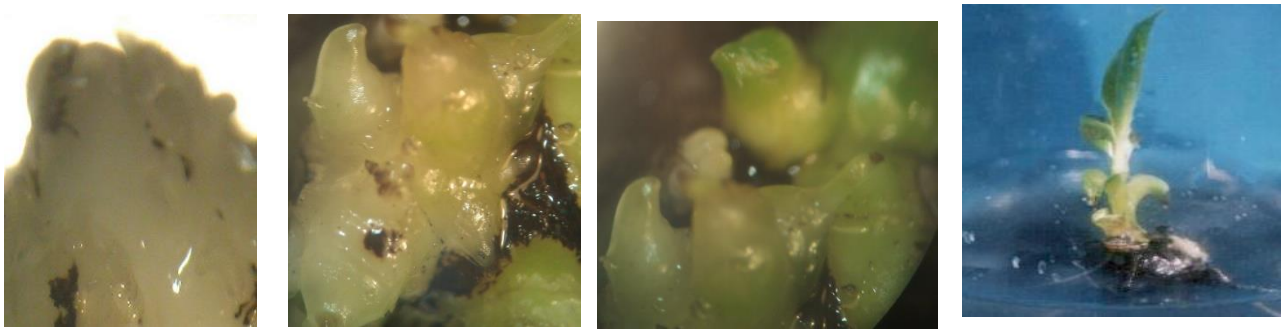
Nica, R., Albany, J. A.,Vilchez, L.G., Elio G., 2005. comporative study of morphological parameters of grand nain banana (musa AAA) after in vitro multiplication with growth retardants. Plant cell, Tissue and organ culture. 83:357-361.

Schoofs, H., Panis, B., Swennen, R., 2005. Competence of scalps for somatic embryogenesis in Musa, ISHS Acta Horticulturae 490: I International Symposium on Banana in the Subtropics.

Uma, S., Lakshmi, S., Saraswathi, M. S., Akbar, A., Mustaffa, M. M., 2011. Embryo rescue and plant regeneration in banana (Musa spp.), Plant Cell Tiss Organ Cult., 105:105–111.

شکل ۱- مراحل تشکیل رویان های پیکری از بافت مریستم و تمایز آنها

(مراحل رویان زایی با میکروسکوپ استریو و بزرگنمایی ۱۰ استفاده شده است)



جدول ۱- تغییرات میانگین و انحراف از معیار طول ساقه و ریشه و تعداد ساقه و ریشه در گیاه موز رقم والری

هفته	تیمارها	میانگین طول ساقه	میانگین تعداد ساقه	میانگین طول ریشه	میانگین تعداد ریشه
MS1	1.00	12.30 ± 0.6	.00 ± 00	.00± 00	.00± 00
MS2	2.00	5.00 ± 0.5	.20 ± .002	.00± 00	.00± 00
MS3	3.00	2.10 ± 0.2	.00 ± 00	.00± 00	.00± 00

Research developmental phases of somatic embryogenesis banana (*Musa acumiata* L.) cv. Vallery

Moradi Z. [1], Sheidai M..[2] , Farahani F. [3], Nejad Satari T. [1]

[1]Department of Biology, School of Basic Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

[2]Department of Biology, Faculty of Biological Sciences, Shahid Beheshti University, Evin, Tehran, Iran.

[1]Department of Microbiology, Qom Branch, Islamic Azad University, Qom, Iran.

Abstract

Banana is one of strategic and economical plant. It is important in nutrition of humans and animals and economic in tropical countries. The Vallery belong to Musa balbisiana Colla and Musa acuminate Colla species and Eumusa and musa genus. The subject of project is developmental phases somatic embryogenesis and regeneration of banana from terminal and axillary buds in cv. Vallery. The meristematic tissue of terminal and axillary used for somatic embryogenesis. Four media culture were contain : (MS1, BAP 3 mg/l, IAA 2 mg/l) ،(MS2, BAP 22.5 mg/l) ، (MS3, BAP 0.4 mg/l , IAA 2 mg/l) prepared. MS1 and MS3 treatments did not observed callus, shoot grown from terminal and axillary meristem. The length of shoot plantlets was longer in MS1 than MS3 but roots was shorter. The cream color and compact of callus (some of part brown color) in observed in MS2 treatment by Stereo Microscope. The circular aggregated embryo raised and increased gradually. The embryo differentiated and green color showed in embryos, after that plantlets regenerated from embryos. Mean length of shoot and root were (3 cm, 1.5 cm) respectively, and number of shoot and root were (0.3) .MS4 treatment produced brown callus and non-compact. The plantlets regenerated from meristematic tissue, length of shoot and root were smaller and number of shoot was higher than other treatment.