# مقایسه دو روش باززایی مستقیم و غیرمستقیم در تولید برگ‌های حاوی پایه جوانه در چغندرقند

# Comparison of Direct and Indirect Regeneration Methods in Producing Leaf Buds in Sugar Beet

رضا شرفی[۱]، فرهاد نظریان فیروزآبادی[۲*] و احمد اسماعیلی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۳/۳۰

**چکیده**

چغندرقند یکی از گیاهان صنعتی مهم در ایران و جهان است. پایه جوانه روی برگ، از جمله مهم‌ترین ریزنمونه‌های مورد استفاده در تراریزش این گیاه است. به‌منظور مطالعه‌ی صفت برگ‌های حاوی پایه جوانه در محیط پایه موراشیک و اسکوگ (MS) به دو روش باززایی مستقیم و غیرمستقیم، یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام گرفت. در روش باززایی مستقیم هورمون‌های بنزیل آدنین (BA) و نفتالین استیک اسید (NAA) هر یک به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و در روش باززایی غیرمستقیم هورمون‌های 2-4-D و کینتین (Kin) هر یک به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، دو لاین چغندرقند (SBSI-04 و SBSI-02) و سه نوع ریزنمونه‌ی برگ پایه جوانه (جوانه انتهایی)، برگ و دمبرگ فاکتورهای مورد مقایسه در این آزمایش بودند. نتایج تجزیه واریانس این مطالعه نشان داد که لاین SBSI-02 با تفاوت معنی‌داری بیشترین باززایی را نشان داد. همچنین اثر نوع ریزنمونه، لاین و روش باززایی روی کارآیی باززایی ریزنمونه‌ها معنی‌داری ($P\leq0.01$) بود. میزان کارآیی باززایی نیز تحت تأثیر اثرات معنی‌دار ($P\leq0.01$) ریزنمونه × لاین قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد روش باززایی اثر معنی‌دار ($P\leq0.01$) روی کارآیی باززایی داشت، اما بین دو روش باززایی مستقیم و غیرمستقیم اختلاف معنی‌داری وجود ($P\leq0.01$) نداشت.

**واژه‌های کلیدی:** باززایی غیرمستقیم، باززایی مستقیم، جوانه انتهایی، چغندرقند

۱، ۲ و ۳. به‌ترتیب دانشجوی سابق کارشناسی‌ارشد اصلاح نباتات و دانشیاران گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، خرم آباد

*: نویسنده مسوول Email:nazarian.f@lu.ac.ir

**مقدمه**

چغندرقند (*Beta vulgaris* L.) گیاهی دیپلوئید (۲n=۱۸) از تیره‌ی اسفناج (Chenopediaceae) و دو ساله است. بسته به شرایط محیطی و ژنوتیپ، طول دوره‌ی رشد این گیاه بین ۵ تا ۹ ماه متغیر است. والد گونه زراعی چغندر یک گونه‌ی یک‌ساله با نام *Beta maritima* L. است *کوک و اسکات* (Cooke and Scott, 1993). در ایران چغندرقند با بیشترین عملکرد نسبت به سایر گیاهان صنعتی، در جایگاه نخست قرار دارد. به‌دلیل قابلیت عملکرد بالا، این گیاه نه تنها به‌عنوان منبع شکر، بلکه به‌عنوان یک کارخانه سبز برای ذخیره متابولیت‌های جدید در ریشه، به‌طور قابل ملاحظه‌ای مورد توجه قرار گرفته است *خادمی و نظریان* (Khademi and Nazarian, 2013). بهبود بسیاری از صفات زراعی به دلیل وضعیت بیولوژیکی خاص چغندرقند، ازجمله دو ساله بودن، آلوگامی (Allogamy)، خودناسازگاری (Self-incompatibility) و همچنین بهبود مقاومت به حشرات مضر به‌دلیل محدود بودن منابع ژنتیکی مقاومت به آفات، عدم تنوع‌ژنتیکی کافی در ژرم‌پلاسم و سیستم چند ژنی مقاومت از طریق به‌نژادی کلاسیک چندان موفقیت آمیز نبوده است و یا با مشکلات بسیاری همراه بوده است *ایویچ-هایمس و سیمگوچی* (Ivic-Haymes and Smigocki, 2005). علاوه‌بر روش‌های کلاسیک، لازم است برای بهبود صفات زراعی مهم از روش‌های نوین در اصلاح این گیاه استفاده نمود. دستیابی به روش‌های باززایی، از کشت سلول، بافت یا اندام گیاهان، پیش شرط دست‌ورزی ژنتیکی گیاهان است *میرزایی‌اصل* و همکاران(Mirzaie Asl *et al*., 2009). علاوه‌بر برنامه‌های به‌نژادی به‌روش جنسی، کشت سلول و بافت فرصت مناسبی برای بهبود فعالیت‌های اصلاحی از طریق ۱) تکثیر کلونال در شرایط آزمایشگاه، ۲) تولید گیاهان هاپلوئید از گرده، ۳) القای موتاسیون و پلی‌پلوئیدی، ۴) هیبریداسیون غیرجنسی، ۵) انتقال ژن و ۶) تلاقی بین گونه‌ای از طریق کشت جنین در این گیاه فراهم آورده است *میرزایی* و همکاران (Mezei *et al*., 2006). یکی از عمده‌ترین نیازهای هر سیستم انتقال ژن، بهره مندی از یک روش باززایی و تولید گیاهچه به کمک کشت بافت است. مروری بر اطلاعات موجود نشان می‌دهد که یکی از موانع مهم در تراریزش این گیاه میزان کم باززایی مستقیم گیاه تراریخت از قطعات ریزنمونه می‌باشد. عمده‌ترین علل چنین رفتاری را می‌توان در محدودیت ریزنمونه‌ها، میزان باززایی کم و وابسته بودن تولید گیاهچه‌ها به ژنوتیپ جستجو نمود *بریارز* و همکاران؛ *اهلرز* و همکاران؛ *جرسبو* و همکاران؛ *لیندزی و گالویس*، *ساندرز و شاین* (Brears *et al*., 1989; Ehlers *et al*., 1991; Joersbo *et al*., 1998; Lindsey and Gallois, 1990; Saunders and Shin, 1986). مطالعه‌ی گیاه چغندرقند در شرایط آزمایشگاهی نشان می‌دهد که سه نوع الگو در نمو و باززایی این گیاه وجود دارد، ۱) شکل‌گیری کالوس‌ها (Caulogenesis)، ۲) شکل‌گیری ساقه‌های یا ریشه‌های نابجا و ۳) شکل‌گیری جنین سوماتیکی زیرنویس شود (Somatic embryogenesis).

انتخاب ریزنمونه به‌منظور انجام تراریزش و افزایش درصد باززایی گیاه، یکی از مهم‌ترین فاکتورهای موفقیت در کشت بافت و به‌دنبال آن تراریزش در چغندرقند است *آلت-مورب* و همکاران؛ *بیدنی* و همکاران؛ *هایی* و همکاران؛ *هوکما* و همکاران؛ *ایویچ* و همکاران؛ *کلی* و همکاران؛ *کوماری* و همکاران؛ *نوربی* و همکاران (Alt-Mörbe *et al*., 1989; Bidney *et al*., 1992; Hiei *et al*., 1997; Hoekema *et al*., 1993; Ivic *et al*., 2001; Klee, 2000; Komari *et al*., 1996; Nauerby *et al*., 1997). از ریزنمونه‌های مختلفی ازجمله کوتیلدون نوروزی و همکاران، *جرسبو* و همکاران (Norouzi *et al*., 2005; Joersbo *et al*., 1998)، هیپوکوتیل *ژاک* و همکاران (Jacq *et al*., 1993)، کالوس جنین‌زا *سیندر* و همکاران؛ *ژانگ* و همکاران (Snyder *et al*., 1999; Zhang *et al*., 2001)، برگ *کونوروارد و هینچی*، *وزنیک و هینچی* (Connor-Ward and Hinchee, 2001; Wozniak and Owens, 1994)، برای تراریزش چغندرقند استفاده شده است. اکثراً باززایی گیاه از این ریزنمونه‌ها به‌صورت غیرمستقیم و شامل فاز کالوس بوده است که این امر گاهی اوقات باعث ایجاد تنوع سوماکلونی می‌شود، بنابراین از روش باززایی مستقیم به‌دلیل سهولت تهیه ریزنمونه، کاهش زمان و قابلیت باززایی بالا استفاده می‌شود. در همین راستا، *بخیت و سلیمان* (Bekheet and Solliman, 2007) از ریزنمونه برگ و جوانه انتهایی برای باززایی به‌روش مستقیم و غیرمستقیم در حضور هورمون‌های مختلف سیتوکینین و اکسین استفاده کردند. نتایج مطالعه این محققان نشان داد که بالاترین باززایی در روش مستقیم از ریزنمونه جوانه انتهایی با ۹۳ درصد و ریزنمونه برگ در روش غیرمستقیم با ۸۰ درصد به‌دست آمد. همچنین تحقیق *خادمی و نظریان* (2013) به‌دنبال بهینه‌سازی محیط‌کشت چغندرقند نشان داد که برگ پایه جوانه در روش باززایی مستقیم به همراه استفاده از هورمون BA (۲ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بهترین ریزنمونه جهت باززایی گیاه چغندرقند است. در تحقیق انجام شده توسط خادمی و نظریان از دو لاین SBSI-02 و SBSI-04 استفاده شد، گرچه هر دو لاین برای باززایی مناسب تشخیص داده شدند اما لاین SBSI-04 بیشترین قابلیت باززایی را نشان داد (*خادمی و نظریان*، 2013). امروزه فعالیت‌های تحقیقات مهندسی ژنتیک

فراوانی روی این گیاه در داخل کشور صورت می‌گیرد و معرفی یک روش باززایی کارآمد مستلزم استفاده از لاین‌های پدری و مادری معرفی شده توسط مؤسسه‌ی چغندرقند کشور است، در این تحقیق، به‌منظور باززایی گیاه چغندرقند از سه ریزنمونه ذکر شده به دو روش باززایی مستقیم و غیرمستقیم و تأثیر ترکیبات هورمونی مختلف و ژنوتیپ در گیاه چغندرقند، از دو لاین اصلاح شده‌ی SBSI-04 و SBSI-02 چغندرقند استفاده شد.

## مواد و روش‌ها

در این تحقیق به‌ترتیب از دو لاین اصلاح شده‌ی چغندرقند به نام‌های SBSI-04 (لاین گرده‌افشان) و SBSI-02 (لاین اوتایپ) گرفته شده از مؤسسه تحقیقاتی اصلاح و تهیه بذر چغندرقند کرج استفاده شد که از آن‌ها هم‌اکنون به‌عنوان بهترین لاین‌های والدی برای تولید بذر هیبرید در کشور استفاده می‌شود. این لاین‌ها توسط مؤسسه اصلا و تهیه بذر چغندرقند کرج اصلاح شده‌اند. برای تولید گیاهچه‌های استریل، از روش *خادمی و نظریان* (2013) استفاده شد. برای اطمینان از استریل شدن و حذف زوائد، بذور به‌ترتیب با محلول هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی و سه مرتبه با آب مقطر شستشو گردیدند، هر مرحله شستشو طی مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. پس از گذشت ۷ روز، کوتیلدون، هیپوکوتیل و ریشه بذور جوانه زده حذف گردیدند و جوانه انتهایی جهت باززایی گیاهچه در محیط مصنوعی شامل محیط پایه MS *موراشیگ و اسکوک* (Murashing and Skoog, 1962) با ترکیب هورمونی BA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) برای تولید برگ پایه جوانه، به‌مدت چهار هفته قرار داده شدند. سپس از برگ پایه جوانه به‌دست آمده سه ریزنمونه برگ، دمبرگ، برگ پایه جوانه (بون جوانه بر روی برگ) تهیه و با ترکیبات سطوح غلظتی هورمون‌های BA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌منظور باززایی مستقیم و هورمون‌های 2-4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و کینتین (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در روش باززایی غیرمستقیم و در مجموع با ۱۲ تیمار کشت شدند. تیمارها در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار و ۱۰ ریزنمونه از هر یک از سه نوع ریزنمونه‌های برگ، دمبرگ و برگ پایه جوانه (جوانه انتهایی) در هر تکرار با همدیگر مقایسه شدند. پس از گذشت چهار هفته، تعداد جوانه‌های باززایی شده بر روی هر سه نوع ریزنمونه تولیدی در طی دو روش باززایی مستقیم و غیرمسقیم تولیدی در هر یک از تیمارها شمارش گردیدند. صفت باززایی جوانه گیاه در دو روش مستقیم و غیرمستقیم بر روی سه نوع ریزنمونه، شامل دو نوع لاین پس از آزمون توزیع نرمال داده‌ها به کمک نرم‌افزار MSTSTC *نیسن* (Nissen, 1989) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

## نتایج

همان‌طوری‌که از جدول ۱ مربوط به تجزیه واریانس داده‌های آزمایش مشاهده می‌شود، نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که نوع ریزنمونه، ژنوتیپ و روش باززایی اثر معنی‌داری روی کارآیی باززایی ریزنمونه‌ها ($P\leq0.01$) داشتند. همچنین میزان کارآیی باززایی نیز متأثر از اثرات متقابل ریزنمونه × لاین ($P\leq0.01$) قرار گرفت. سایر اثرات دوجانبه و همچنین اثر متقابل سه‌جانبه در این مطالعه معنی‌دار نشدند.

تجزیه واریانس به علت پراکنش متقارن داده‌ها حول میانگین کل تیمارها گاه سبب می‌شود که میانگین مربعات معنی‌دار نشود، درحالی‌که بین میانگین تیمارها اختلاف وجود داشته باشد، مقایسه میانگین به‌روش دانکن برای اثر متقابل سه‌جانبه در سطح ۱ درصد صورت گرفت *یزدی صمدی* و همکاران (Yazdi Samadi *et al*., 2009). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌گانه صفت باززایی گیاهچه با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد در جدول شماره ۲ نشان داده شده است. همان‌طوری‌که ملاحظه می‌شود، بیشترین میزان باززایی مربوط به ریزنمونه برگ پایه جوانه (جوانه انتهایی) بود و کمترین باززایی از ریزنمونه دمبرگ و همچنین بیشترین کارآیی باززایی در لاین SBSI-02 نسبت به لاین SBSI-04 مشاهده شد.

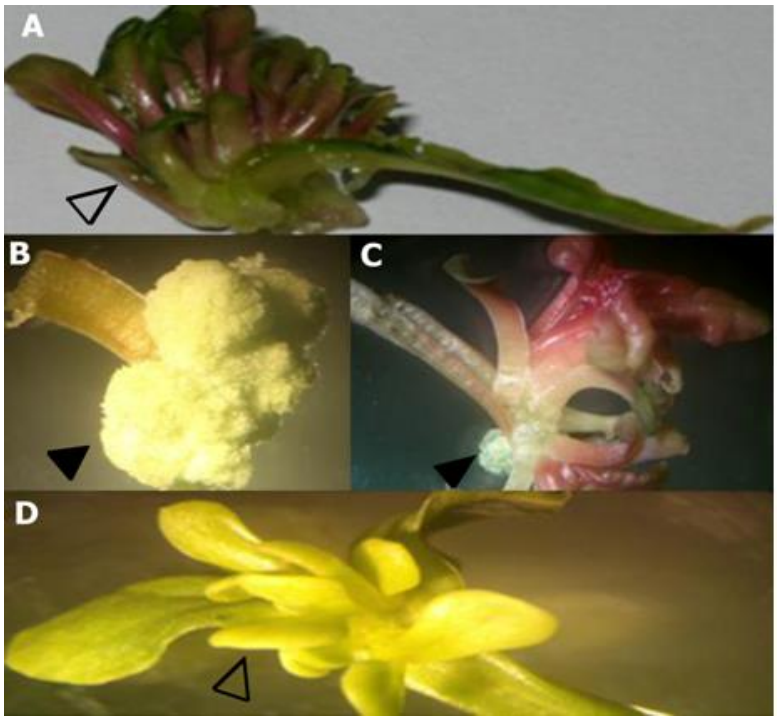
جدول ۱: تجزیه واریانس صفت باززایی گیاهچه در گیاه چغندرقند

Table 1: Analysis of variance for plantlet regeneration in sugar beet plants

| منابع تغییر<br>S.O.V | درجه آزادی<br>df | میانگین مربعات<br>MS |
|---|---|---|
| ریزنمونه<br>Explant | 2 | 62.64** |
| لاین<br>Line | 1 | 90.75** |
| روش باززایی<br>Regeneration method | 1 | 5.81** |
| ریزنمونه × لاین<br>Explant × Line | 2 | 8.33** |
| ریزنمونه × روش باززایی<br>Regeneration method × Explant | 2 | 0.39ns |
| لاین × روش باززایی<br>Line × Regeneration method | 1 | 0.08ns |
| ریزنمونه × لاین × روش باززایی<br>Line × Regeneration method × Explant | 2 | 1.90ns |
| خطا<br>Eroor | 36 | 1.25 |
| ضریب تغییرات (٪)<br>CV (%) | | 16.98 |

ns و **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

ns and **: non significant and Significant at α=0.01, respectively




شکل ۱: گیاهچه‌های حاصل از ریزنمونه‌های مختلف. (A) باززایی گیاهچه به‌روش مستقیم از ریزنمونه پایه جوانه. (B) و (C) باززایی گیاهچه به‌روش غیرمستقیم از ریزنمونه‌ی دمبرگ. (D) باززایی گیاهچه به‌روش مستقیم از ریزنمونه برگ. پیکان‌های توخالی گیاهچه-های باززایی شده به‌روش مستقیم و پیکان‌های توپر کالوس‌های ایجاد شده به‌روش غیرمستقیم را نمایش می‌دهند

Fig. 1: Plantlets regenerated from different explants. (A) Plantlet regeneration by direct organogenesis from bud explants. (B) and (C) Plantlet regeneration by direct organogenesis from petiole explants. (D) Plantlet regeneration by direct organogenesis from leaf explants. Open arrow heads show plantlets regenerated from calli induced by direct organogenesis and the solid arrow heads show indirect organogenesis

شکل ۱ گیاهچه‌های باززایی شده از ریزنمونه‌های مختلف را نشان می‌دهد. همان‌طورکه در شکل ۱A و ۱D مشاهده می‌شود، از تمامی ریزنمونه‌ها در روش باززایی مستقیم، یعنی بدون تولید کالوس، گیاهچه باززایی گردید. ولی در روش باززایی غیرمستقیم در تمام ریزنمونه‌ها بعد از گذشت سه هفته ابتدا کالوس مشاهده شد و سپس از کالوس گیاهچه به‌دست آمد (شکل ۱B و ۱C).

با توجه به داده‌های جدول ۲، به‌طورکلی بیشترین باززایی صرف‌نظر از روش باززایی، مربوط به ریزنمونه‌های برگ پایه جوانه در لاین SBSI-02 بود. هرچند که مقدار عددی میزان باززایی لاین SBSI-02 بیشتر بود، ریزنمونه‌ی دمبرگ لاین SBSI-04 در هر دو روش باززایی مستقیم و غیرمستقیم کمترین میزان باززایی را به خود اختصاص داد.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرات متقابل سه‌جانبه صفت باززایی گیاهچه با استفاده از آزمون دانکن (α=۰/۰۱)

Table 2: Mean comparison of a three-way interaction effects on regeneration trait, using Duncan's multiple range test (α=0.01)

| ریزنمونه Explant | لاین Line | روش باززایی Regeneration method | درصد باززایی Regeneration |
|---|---|---|---|
| برگ پایه جوانه Leaf bud | SBSI-02 | D | 9.50a |
| | | ID | 10.00a |
| | SBSI-04 | D | 5.5bc |
| | | ID | 6.75b |
| برگ Leaf | SBSI-02 | D | 9.00a |
| | | ID | 9.25a |
| | SBSI-04 | D | 5.5bc |
| | | ID | 6.25b |
| دمبرگ Petiole | SBSI-02 | D | 4.00cd |
| | | ID | 6.00d |
| | SBSI-04 | D | 3.5d |
| | | ID | 3.75d |

میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، از نظر آماری معنی‌دار نیستند. D: باززایی مستقیم و ID باززایی غیرمستقیم

Means followed by the same letter do not differ significantly (α= 0.01). D: Direct regeneration; ID: Indirect regeneration

**بحث**

درصد باززایی به عواملی همچون ژنوتیپ، ترکیبات هورمونی و نوع ریزنمونه بستگی دارد (*خادمی و نظریان*، 2013). چغندرقند یکی از گیاهانی است که دست‌ورزی ژنتیکی آن مشکل است و در حال حاضر، یک روش استاندارد و کارآمد برای باززایی این گیاه در شرایط مصنوعی کشت بافت وجود *ندارد هیسانو* و همکاران (Hisano *et al*., 2004). لذا پژوهشگران همچنان به‌دنبال یک روش مؤثر و در عین حال ساده برای کشت‌بافت چغندرقند هستند. مطالعه در زمینه باززایی گیاه چغندرقند با ریزنمونه‌های مختلف و روش‌های باززایی مستقیم و غیرمستقیم صورت گرفته است *کرنز* و *جامار*؛ *لیندزی و گالویس* (Krens and Jamar, 1989; Lindsey and Gallois, 1990). نتایج مطالعات متعدد نشان می‌دهد که کارآیی باززایی برخی از ریزنمونه‌ها نسبتاً پایین است. دلیل این امر را می‌توان در نوع ژنوتیپ و ترکیبات کشت بافت جستجو کرد *میشیتیکا و گاپونکو* (Mishutkina and Gaponenko, 2006). استفاده از سطوح هورمون‌های مختلف برای ریخت‌زایی از ریز نمونه‌ها در گیاه چغندرقند مناسب تشخیص داده شده است *بخیت و سلیمان* (Bekheet and Solliman, 2007). بخیت و سلیمان از ریزنمونه برگ و جوانه انتهایی برای باززایی روش مستقیم در محیط پایه MS حاوی BA (۱ میلی‌گرم در لیتر)، NAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و در روش غیرمستقیم از هورمون‌های کینتین (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر)، 2-4-D (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده کردند. *خادمی و نظریان* (2013) به‌منظور باززایی گیاه چغندرقند در روش باززایی مستقیم از دو تیمار هورمونی (BA) (صفر، یک، ۱/۵، دو میلی‌گرم در لیتر) و نفتالین‌استیک-اسید (NAA) (صفر، ۰/۵، ۰/۷۵ و یک میلی‌گرم در لیتر) و دو نوع لاین SBSI-04 و SBSI-02 استفاده نمودند. نتایج این تحقیق نشان داد که برگ پایه جوانه در حضور استفاده از هورمون BA (دو و ۱/۵ میلی‌گرم درلیتر) بهترین ریزنمونه جهت باززایی گیاه چغندرقند است. همچنین صرف‌نظر از نوع روش باززایی، ریزنمونه‌ی برگ پایه‌ی جوانه بیشترین کارآیی را

داشت. اگرچه *خادمی و نظریان* (2013) هر دو لاین اصلاح شده را برای باززایی مناسب تشخیص دادند، اما برخلاف نتایج آنها این مطالعه لاین SBSI-02 قابلیت باززایی بیشتری نشان داد.

ریزنمونه نیز یکی از عوامل مؤثر در کشت بافت گیاه چغندر است. بر حسب نوع ریزنمونه، موقعیت ریزنمونه و شرایط فیزیکی ریزنمونه، میزان باززایی تحت تأثیر قرار می‌گیرد. نتایج این مطالعه و همچنین سایر محققان نشان می‌دهد که باززایی به میزان زیادی به نوع ریزنمونه بستگی دارد. ریزنمونه‌های جوان‌تر باززایی سریعتری دارند. یکی از دلایل این موضوع می‌تواند شرایط فیزیولوژیکی گیاه باشد، به‌طوری‌که بافت‌های جوان‌تر عکس‌العمل بهتری در مقایسه با بافت‌های مسن‌تر نشان می‌دهند و ریزنمونه‌های جوان‌تر گیاهچه‌های قوی‌تری نسبت به ریزنمونه‌های مسن و قدیمی‌تر تولید می‌کنند. در تأیید این موضوع، نتایج این تحقیق نشان داد که بهترین ریزنمونه جهت باززایی گیاه چغندرقند، برگ پایه‌جوانه است. این درحالی است که دو نوع ریزنمونه برگ و دمبرگ کارآیی باززایی ضعیف‌تری را نشان دادند. نتایج آزمایش *بخیت و سلیمان* (2007) نیز نشان داد که بهترین باززایی در روش مستقیم از ریزنمونه برگ پایه جوانه با ۹۳ درصد و ریزنمونه برگ در روش غیرمستقیم با ۸۰ درصد حاصل شد (*بخیت و سلیمان*، 2007). همچنین *خادمی و نظریان* (2013) اگرچه تنها باززایی در روش مستقیم را مورد بررسی قرار دادند، اما آنها از بین سه نوع ریزنمونه، برگ پایه جوانه را بهترین ریزنمونه جهت باززایی گیاه چغندرقند گزارش کردند. در تحقیق حاضر بهترین روش باززایی گیاه چغندرقند، روش باززایی مستقیم به همراه استفاده از دو هورمون BA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) تشخیص داده شد. همچنین بیشترین تولید کالوس در روش باززایی غیرمستقیم به همراه دو هورمون 2-4-D و کینتین به‌دست آمد. نتایج این قسمت با نتایج مطالعه بخیت و سلیمان همسو بود، به‌طوری‌که تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط‌کشت شامل سیتوکنین‌ها (کینتین و BA) در ترکیب با هورمون‌های NAA بیشترین کارآیی را در روش باززایی مستقیم نشان دادند. در برخی تحقیقات به‌منظور باززایی گیاه چغندرقند از هورمون‌ها و ریزنمونه‌های دیگری نیز استفاده شده است. به‌عنوان مثال، *کرنز* و همکاران (Krens *et al*., 1996) از ریزنمونه گره کوتیلدون برای تمایز مجدد در بهبود کارآیی تراریزش در سیستم‌های گیاهی، از دو هورمون NAA و 2-4-D استفاد کردند. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که هورمون 2-4-D باعث افزایش دوره کشت بافت به همراه داشتن فاز کالوس‌زایی می‌شود (*کرنز* و همکاران، 1996). همچنین استفاده از این هورمون سبب ایجاد تنوع سوماکلونی به‌همراه کاهش در تعداد گیاهچه باززایی شده گردید. با این حال، استفاده از این هورمون باعث افزایش کارآیی تراریزش به علت مستعد نمودن سلول‌ها شد. همچنین هورمونNAA باعث توانایی تغییر فیزیولوژیکی درون سلولی ریزنمونه‌ها و افزایش صلاحیت تراریزش بدون کاهش در میزان باززایی می‌شود (*میرزایی‌اصل* و همکاران، 2009) از ریزنمونه برگ جهت تولید نوساقه در روش باززایی مستقیم به‌همراه استفاده از $mgl^{-1}$ ۱ از هورمون BAP استفاده کردند. براساس مطالعه این محققان این هورمون برای باززایی مستقیم مناسب است (*میرزایی‌اصل* و همکاران، 2009).

علاوه‌بر ترکیبات هورمونی، ژنوتیپ نیز از عوامل مهم و تأثیرگذار روی باززایی است. در این تحقیق از دو لاین اصلاح شده‌ی SBSI-02 و SBSI-04 استفاده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که بین این دو لاین چغندرقند از نظر میزان باززایی تفاوت وجود دارد. در همین راستا میشوتکینا و گاپوننکو به مطالعه تأثیر نوع هورمون، ریزنمونه و ژنوتیپ در کارآیی باززایی مستقیم و غیرمستقیم در محیط MS حاوی سیتوکنین‌های BA، کینتین و زآتین (با غلظت‌های ۰/۲۵، ۰/۵ و یک میلی‌گرم در لیتر) پرداختند (*میشیتیکا و گاپوننکو*، 2006). براساس نتایج حاصل از این تحقیق باززایی مستقیم گره کوتیلدون در محیط-های حاویBAP (یک میلی‌گرم در لیتر) و زآتین (۰/۵ میلی-گرم در لیتر) نسبت به محیط حاوی کینتین بیشتر بود. همچنین داده‌های حاصل از این تحقیق نشان داد که محیط MS (*موراشیگ و اسکوگ*، 1962) حاوی هورمون‌های BAP (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (یک میلی‌گرم در لیتر) سبب بالاترین نرخ باززایی می‌شوند. در روش باززایی غیرمستقیم کارآیی باززایی بین ۱۰ تا ۹۷ درصد برحسب نوع ریزنمونه، ترکیبات محیط‌کشت بافت و نوع ژنوتیپ گیاه متغییر بود و باززایی برحسب ژنوتیپ، نتایج متفاوتی را نشان داد. به‌طورکلی نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که بیشترین کارآیی باززایی مربوط به لاین SBSI-02. همچنین ریزنمونه برگ پایه جوانه در بین دو نوع ریزنمونه دیگر (دمبرگ و برگ) بیشترین میزان باززایی را به خود اختصاص داد.

منابع:

جهت مطالعه منابع به صفحه ۲۳-۲۲ متن انگلیسی مراجعه شود.