جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جلد ۳۳، شماره ۲،سال ۱۳۸۱(۲۳۹-۲۳۳)

اثر هورمون‌های گیاهی بر جوانه‌زائی مستقیم از جداکشت‌های گیاه چغندرقند

پیمان نوروزی[۱]، محمدعلی ملبوبی[۲] و بهمن یزدی صمدی[۳]
۱، ۳، دانشجوی دوره دکتری و استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران
۲، استادیار مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک و تکنولوژی زیستی
تاریخ پذیرش مقاله ۸۰/۸/۲۳

خلاصه

در این تحقیق، جهت تعیین روشی مناسب برای جوانه‌زایی مستقیم در چغندرقند (*Beta vulgaris* L.)، جداکشت‌های مختلف مورد آزمون آماری قرار گرفتند. بافت‌های به کار رفته شامل جوانه رأسی، محور زیرلپه، دمبرگ لپه‌ای، دمبرگ برگ، برگ کامل گیاهچه بذری و برگ کامل گیاهچه حاصل از کشت بافت بود. بافت جوانه رأسی گیاهچه ۱۰ روزه در ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA)، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تری‌یدوبنزوئیک اسید (TIBA) منجر به ٦٦٪ جوانه‌زایی گردید. بافت دمبرگ برگ گیاهچه ۲۵ روزه در ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۵۵٪ جوانه‌زائی داشت. برگ کامل گیاهچه حاصل از کشت جوانه رأسی نیز در ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بالاترین میزان جوانه را تولید نمود. در بین جداکشت‌ها، محور زیرلپه، دمبرگ لپه‌ای و برگ کامل گیاهچه بذری در ترکیبات هورمونی مورد آزمایش جوانه‌زائی نداشتند. از این آزمون‌ها نتیجه گرفته شد که جوانه رأسی، دمبرگ برگ و سپس برگ گیاهچه حاصل از کشت بافت در محیط کشت دارای غلظت مناسب BA، NAA و TIBA می‌تواند منجر به تولید بالایی از جوانه‌های رویشی شود. بنابراین به نظر می‌رسد جداکشت‌های فوق برای جوانه‌زایی مستقیم مفید بوده و بتوان از آنها برای پایه‌گذاری روش‌های انتقال ژن به گیاه چغندرقند استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: چغندرقند، جوانه‌زایی، باززایی، جوانه رأسی، برگ، دمبرگ.

مقدمه

یکی از نیازهای اولیه برای تولید گیاهان ترا ریخته[۱] استفاده از فنون کشت سلول و بافت بوده تا بتوان از یک یا چند سلول تراریخته اولیه به بافت، اندام و در نهایت گیاه کامل دست یافت.

چغندرقند گیاهی دو لپه‌ای است که دارای ارزش اقتصادی و استراتژیک زیادی می‌باشد. با وجود مشکلاتی در زراعت این گیاه از قبیل افت شدید محصول به طور عمده به دلیل تنش‌های زیستی (حمله قارچ‌ها، نماتدها، ویروس‌ها و ...) تاکنون تلاش‌های موفق زیادی برای انتقال ژن‌های مسوول ایجاد مقاومت به این تنش‌ها به گیاه چغندرقند صورت نگرفته است. مروری بر اطلاعات موجود نشان می‌دهد که یکی از موانع مهم در تراریختی[۲] این گیاه میزان کم باززایی مستقیم گیاه تراریخته از قطعات جداکشت[۳] می‌باشد (۱۴، ۱۰-۸، ۴-۲). در مطالعاتی که قبلاً توسط سایر محققین برای بالا بردن میزان باززایی انجام شده، نشان داده شده است که ترکیبات هورمونی در این امر نقش به سزایی دارند. از جمله این تحقیقات، کشت مریستم انتهایی گیاه گلخانه‌ای در محیط کشت حاوی ۱۰ میکرومولار BA و تولید جوانه از آن (۱۱)، کشت مریستم انتهایی ۵-۳

مکاتبه کننده: بهمن یزدی صمدی

1 . Transgenic Plants
2 . Transformation
3 . Explant

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

میلی‌متری گیاه چغندرقند در محیط کشت MS واجد ۱ میکرومول BA و ۰/۱ میکرومول NAA جهت باززایی جوانه(۶) و کشت دمبرگ در محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA و تولید جوانه‌های نابجا (۱۳) را می‌توان ذکر نمود.

در این تحقیق، روش‌های کشت قطعات جداکشت و تاثیر ترکیبات هورمونی مختلف بر فراوانی جوانه‌زایی این قطعات در گیاه چغندرقند مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

در این تحقیق از رقم زراعی نتاج دیپلوئید تک جوانه‌ای ۹۵۹۷ که به عنوان والد تعدادی از بذرهای تجارتی چغندرقند در کشور به کار می‌رود استفاده گردید.

تولید گیاهچه درون شیشه[1]

برای تولید گیاهچه‌های سترون مراحل زیر انجام شد:

بذرهایی که سطح آنها ساییده شده بود پس از شستشو در آب با الکل ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و سپس با محلول سدیم هیپوکلریت ۱/۶٪ به مدت ۱۵ دقیقه در زیر هود ضدعفونی شدند. پس از سه بار شستشو با آب مقطر سترون هر بار به مدت ۵ دقیقه، بذرها جهت ریشه‌دار شدن بر روی کاغذ صافی سترون مرطوب درون ظروف پتری در تاریکی قرار داده شدند. پس از ۲ روز بذرهای ریشه‌دار به محیط‌های کشت جوانه‌زنی MSB نصف غلظت شامل املاح MS (۱۲) و ویتامین‌های B5 (۵) و یا محیط PGoB تغییر یافته (۱) با نصف غلظت منتقل شدند. شیشه‌های کشت حاوی بذر در گلخانه به مدت ۲۵-۱۰ روز در دمای ۳۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد، شدت نور ۳۰۰۰ لوکس و تناوب نوری ۱۶ ساعت نور، ۸ ساعت تاریکی جهت تولید گیاهچه‌های سترون قرار داده شدند.

محیط‌های کشت بافت

محیط‌های کشت پایه جهت کشت بافت‌های گیاهی MSB و یا PGoB تغییر یافته با ۳٪ ساکارز و ۰/۸٪ آگار با pH = ۵/۸ بودند.

1 . *In vitro*

شرایط محیطی کشت بافت

در کلیه آزمایش‌ها، نمونه‌های کشت شده جهت تولید جوانه در دمای ۲۸-۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۴۰۰۰-۳۰۰۰ لوکس و تناوب نوری ۱۶ ساعت نور، ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. نمونه‌ها پس از ۲ هفته برای ادامه رشد به محیط کشت تازه منتقل شدند. پس از یک ماه از شروع کشت، تعداد جوانه‌های طبیعی تولید شده شمارش گردید.

آزمون‌های جوانه‌زایی

جوانه‌زایی جداکشت‌های مختلف در ترکیبات هورمونی مختلف مورد آزمایش مقدماتی قرار گرفت. در آزمایش‌های بعدی، جوانه‌زائی مستقیم از جداکشت‌های جوانه رأسی، دمبرگ برگ اصلی و برگ گیاهچه حاصل از کشت جوانه رأسی در یک سری آزمون‌های آماری با سطوح هورمونی مختلف جهت یافتن ترکیب هورمونی مناسب به شرح زیر انجام گرفت.

در آزمایش جوانه‌زایی از جوانه رأسی گیاهچه ۱۰ روزه، با ترکیب سطوح غلظتی هورمون‌های BA (۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر)، NAA (۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و TIBA (۰ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در مجموع ۱۸ تیمار هورمونی حاصل شد (جدول ۲). این تیمارها در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۳ تکرار و ۱۰ نمونه جوانه رأسی در هر تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند.

در آزمون جوانه‌زایی از دمبرگ گیاهچه ۲۵ روزه، جداکشت‌های دمبرگ واجد نقاط مریستمی در سه تیمار هورمونی دارای BA و NAA (جدول ۴) در قالب طرح کاملاً تصادفی با تکرارهای نامساوی (برای تیمار اول و دوم به علت مشابهت تقریبی در ترکیب هورمونی از ۸ تکرار و برای تیمار سوم از ۳ تکرار استفاده شد) و ۱۰ نمونه دمبرگ در هر تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند.

در آزمون جوانه‌زایی از برگ گیاهچه حاصل از کشت جوانه رأسی در یک میلی‌گرم در لیتر BA و یک میلیگرم در لیتر NAA، از ۴ تیمار هورمونی دارای BA، NAA و TIBA (جدول ۶) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ۴ تکرار و ۱۲ نمونه برگ در هر تکرار استفاده گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: در آزمون‌های جوانه‌زایی از جوانه رأسی و دمبرگ، درصد جوانه‌های حاصل از تعداد کل

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جداکشت‌ها پس از تبدیل زاویه‌ای یا $\text{Arc}\sin\sqrt{x}$ و در آزمون جوانه‌زایی از برگ، تعداد کل جوانه‌های حاصل پس از تبدیل ریشه دوم یا $\sqrt{x}$ مورد تجزیه واریانس قرار گرفتند.

تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTATC انجام شد. در صورت وجود اختلاف معنی‌دار، روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت.

نتایج و بحث

مطالعات در زمینه کشت سلول و بافت چغندرقند نشان داده است که باززایی مستقیم جوانه به عواملی همچون ژنوتیپ، ترکیبات هورمونی و نوع جداکشت بستگی دارد (۶، ۳، ۱۱، ۷، ۱۳). آزمون‌های مقدماتی جداکشت‌های مختلف نشان داد که جوانه‌زایی از محور زیرلپه، دمبرگ لپه‌ای وبرگ گیاهچه بذری در ترکیبات هورمونی به کار رفته صورت نمی‌گیرد (داده‌ها نشان داده نشده است). بنابراین در آزمایش‌های بعدی تنها جداکشت‌های جوانه رأسی، دمبرگ و برگ حاصل از کشت بافت مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج آزمون جوانه‌زایی از جوانه رأسی نشان داد که از سه هورمون مورد استفاده، مهمترین هورمون BA بوده است. به طوری که اثر فاکتور هورمونی BA در جوانه‌زائی در سطح ۱٪ معنی‌دار شده بود. البته فراوانی جوانه‌زایی به حضور سایر هورمون‌ها نیز بستگی دارد؛ چنانچه اثر متقابل BA×TIBA نیز در سطح ۱٪ معنی‌دار شده است (جدول ۱). حذف BA از محیط کشت باعث عدم جوانه‌زایی گردید. به علاوه با افزایش مقدار BA از صفر به ۲ میلی‌گرم در لیتر، افزایش معنی داری در جوانه‌زایی مشاهده شد (جدول ۲). تولید بالاترین درصد جوانه‌زایی از جوانه رأسی در ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TIBA بدست آمد.

مقایسه نتایج این آزمون با تحقیقات میکامی و همکاران در سال ۱۹۸۵ مبنی بر کشت مریستم انتهایی گیاه در محیط کشت حاوی ۲/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA و تولید ۴۸٪ جوانه رویشی (۱۱) نشان می‌دهد که با افزودن هورمون‌های NAA و TIBA علاوه بر BA میزان جوانه‌زائی افزایش یافته است. همچنین در این آزمون مشاهده گردید که در تیمار شماره ۳ در

حدول ۱- تجزیه واریانس فراوانی جوانه‌زائی از جوانه رأسی برای سه فاکتور هورمونی BA، NAA و TIBA در چغندرقند

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۲	۱۷۸/۶۲۸
BA	۲	۷۶۵۱/۱۶۵ **
NAA	۲	۱۲۷/۶۰۹
TIBA	۱	۳۰۹/۳۶۲
BA*NAA	۴	۱۶۳/۰۶۹
BA*TIBA	۲	۵۴۵/۲۶۶ **
NAA*TIBA	۲	۸۶/۶۲۴
BA*NAA*TIBA	۴	۱۱۶/۵۵۴
اشتباه آزمایش	۳۴	۸۹/۰۹۲
کل	۵۳	

** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد BA: بنزیل آدنین، NAA: نفتالن استیک اسید، TIBA: تری یدوبنزوئیک اسید

مواردی که جوانه ظاهر شده بود با وجود غیر طبیعی بودن آنها، ریشه نیز تولید گردید و در تیمارهای ۱۵ و ۱۷ اکثر برگ‌های جوانه‌ها حالتی متورم و شفاف داشتند.

در آزمون جوانه‌زایی از دمبرگ، معنی‌دار شدن اثر تیمار نشان دهنده تاثیر اختلاف ترکیبات هورمونی به کار رفته در ظهور جوانه‌های رویشی می‌باشد (جدول ۳). همچنین به نظر می‌رسد که نسبت برابر هورمون BA و NAA با توجه به محتوای درونی هورمون‌های بافت دمبرگ، اثر مثبتی در افزایش جوانه‌زایی از این جداکشت‌ها داشته است (جدول ۴). جوانه رویشی حاصل از کشت دمبرگ در ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA حالتی طبیعی داشته و اکثراً از نواحی برش یافته نزدیک به مریستم رأسی ظاهر شده بودند. به نظر می‌رسد این منطقه دارای سلول‌های با قابلیت بازگشت به حالت مریستمی و باززایی بیشتری می‌باشد. جوانه‌های حاصل از کشت دمبرگ جهت ادامه رشد به محیط تازه منتقل گردید و گیاه تا مرحله گلدانی کشت گردید.

تحقیقات جیان فنگ و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان داد که نگهداری گیاه در محیط MSB با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA به مدت ۳۰-۲۰ روز و سپس جداسازی و کشت دمبرگ گیاهچه‌ها در محیط MS با ترکیبات

جدول ۲- مقایسه میانگین فراوانی جوانه‌زائی از جوانه رأسی برای سه فاکتور هورمونی BA، NAA و TIBA در چغندرقند

میانگین درصد جوانه‌زائی	غلظت هورمونی برحسب میلی‌گرم در لیتر TIBA	NAA	BA	شمارهٔ تیمار
۰ C	۰	۰	۰	۱
۰ C	/۵	۰	۰	۲
۰ C	۰	۰/۵	۰	۳
۰ C	۰/۵	۰/۵	۰	۴
۰ C	۰	۱	۰	۵
۰ C	۰/۵	۱	۰	۶
۲۹ B	۰	۰	۱	۷
۲۶ B	۰/۵	۰	۱	۸
۳۳ B	۰	۰/۵	۱	۹
۲۲ B	۰/۵	۰/۵	۱	۱۰
۴۲ AB	۰	۱	۱	۱۱
۵۱ AB	۰/۵	۱	۱	۱۲
۳۳ B	۰	۰	۲	۱۳
۴۰ AB	۰/۵	۰	۲	۱۴
۲۲ B	۰	۰/۵	۲	۱۵
۶۶ A	۰/۵	۰/۵	۲	۱۶
۲۶ B	۰	۱	۲	۱۷
۵۱ AB	۰/۵	۱	۲	۱۸

BA: بنزیل آدنین، NAA: نفتالن استیک اسید،
TIBA : تری یدو بنزوئیک اسید
میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

جدول ۳- تجزیه واریانس فراوانی جوانه‌زائی از دمبرگ چغندرقند برای سه ترکیب هورمونی BA و NAA

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تیمار	۲	۳۹۰ *
اشتباه آزمایش	۱۶	۷۲
کل	۱۸	

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد

جدول ۴- مقایسه میانگین فراوانی جوانه‌زائی از دمبرگ چغندرقند برای سه ترکیب هورمونی BA و NAA.

میانگین درصد جوانه زائی	غلظت هورمونی بر حسب میلی گرم در لیتر NAA	BA	شماره تیمار
۵۵ A	۱	۱	۱
۳۵ B	۰/۳	۱	۲
۳۰ B	۰	۰/۲۵	۳

BA: بنزیل آدنین، NAA: نفتالن استیک اسید
میانگین‌هایی که دارای حروف مشابهی هستند تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد ندارند

هورمونی مشابه می‌تواند ۵۱٪ جوانه نابجا تولید نماید (۷). بنابراین به نظر می‌رسد اختلاف درصد جوانه‌زایی در دو نوع آزمون به علت اثر ژنوتیپ و پیش کشت گیاهچه‌ها در محیط کشت حاوی هورمون‌های BA و NAA بوده باشد.

همانطور که در بالا ذکر شد، در آزمایش‌های اولیه، هیچگونه باززایی از برگ گیاهچه حاصل از بذر مشاهده نگردید. لذا برای بررسی اثر تیمارهای هورمونی در پیش کشت، از برگ گیاهچه‌های حاصل از کشت جوانه رأسی استفاده شد. در عمل مشاهده شد که فراوانی جوانه‌زایی از این برگ‌ها با توجه به نوع تیمار هورمونی بین ۱۶ تا ۴۲ جوانه متغیر است (جدول ۶). نتایج آزمون جوانه‌زایی این برگ‌ها نشان داد که میزان جوانه‌زایی به نوع ترکیبات هورمونی بستگی دارد و بین تیمارهای هورمونی اختلاف معنی‌داری مشاهده می‌گردد (جدول ۵). به نظر می‌رسد هورمون تعین کننده جوانه‌زایی از برگ، هورمون BA در ترکیب با غلظت‌های متفاوتی از NAA باشد (جدول ۶). لازم به ذکر است که جوانه‌های رویشی به طور عمده بر روی سطح فوقانی برگ و در نواحی نزدیک به محل اتصال دمبرگ به پهنک تولید شده بودند و این در حالی است که از پهنک برگ هیچ جوانه‌ای حاصل نگردید و جوانه‌زایی از دمبرگ به تنهایی نیز ممکن نبود.

نتایج به دست آمده حاکی از آن است که بافت‌هائی با تمایز کمتر، پتانسیل بیشتری برای باززائی دارند و می‌توان با استفاده از سیتوکینین‌هائی نظیر BA فرایند تمایز بافتی‌را تحریک نمود. البته‌درعمل‌بهره‌گیری ازغلظت‌های پایین اکسین‌ها(نظیرNAA)

جدول ۵- تجزیه واریانس فراوانی جوانه‌زائی از برگ گیاهچه‌های حاصل از جوانه رأسی چغندرقند برای چهار ترکیب هورمونی BA، NAA و TIBA

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
تکرار	۳	۰/۱۸۸
تیمار	۳	۱/۳۹۹ **
اشتباه آزمایش	۹	۰/۱۵۲
کل	۱۵	

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

جدول ۶- مقایسه میانگین فراوانی جوانه‌زائی از برگ گیاهچه‌های حاصل از جوانه رأسی چغندرقند برای چهار ترکیب هورمونی BA، NAA و TIBA.

میانگین تعداد جوانه	غلظت هورمونی بر حسب میلی گرم در لیتر			شماره تیمار
	TIBA	NAA	BA	
۱۹ B	۰	۰	۰/۲۵	۱
۳۸ A	۰	۰/۱	۱	۲
۴۲ A	۰	۱	۱	۳
۱۶ B	۰/۵	۰	۱	۴

BA: بنزیل آدنین NAA: نفتالن استیک اسید، TIBA: تری یدو بنزوئیک اسید
میانگین‌های با حروف مشابه، تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

به همراه غلظت بالای سیتوکینین، جوانه‌زائی مستقیم را تشدید می‌نمود. همچنین استفاده از TIBA به عنوان تعدیل کننده تاثیر اکسین‌های داخلی گیاه، باز هم درصد جوانه‌زائی مستقیم را در مورد جداکشت جوانه رأسی افزایش داد.

با توجه به نتایج آزمون‌های فوق به نظر می‌رسد که بتوان از جداکشت‌های جوانه رأسی، دمبرگ و برگ گیاهچه حاصل از کشت بافت، در فرآیند تراریختی چغندرقند استفاده نمود. نکته مهم آن است که مزیت روش‌های فوق، باززایی مستقیم از جداکشت‌های مذکور می‌باشد. با استفاده از روش باززایی مستقیم، می‌توان زمان کشت شیشه‌ای را کاهش داد و به این ترتیب تنوع سوماکلونی حاصل از کشت بافت را که در فرآیندهای تراریختی یک پدیده نامطلوب محسوب می‌شود به حداقل رساند. البته در فرایندهای تراریختی باید به طریقی از باززایی گیاه حاصل از تک سلول‌های تراریخته اولیه اطمینان حاصل نمود، به طوری که چندشکلی شدن[1] گیاه تراریخته حاصل را به حداقل رساند.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران و موسسه تحقیقات چغندرقند که بودجه و امکانات لازم برای انجام این تحقیق را در قالب طرح شماره ۱۲۸ مصوب مرکز، فراهم نموده‌اند کمال سپاسگزاری می‌گردد. همچنین از آقایان دکتر سید یعقوب صادقیان و دکتر محمود مصباح و سرکار خانم مهندس یاوری از موسسه تحقیقات چغندرقند و آقای دکتر قره‌یاضی از موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی و از کلیه همکارانی که در مرکز ملی تحقیقات مهندسی ژنتیک هر یک با مساعدت‌ها و مشاوره‌های مفید خود به نحوی در پیشبرد این تحقیق نقش داشته‌اند نهایت تشکر ابراز می‌گردد.

1 . Chimeric

مراجع مورد استفاده

REFERENCES

۱- مصباح، م. ۱۳۷۰. بررسی مناسب‌ترین روش ازدیاد غیر جنسی *In vitro* در ژنوتیپ‌های مختلف چغندر (جنس *Beta*). پایان نامه کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران.

2. Brears T., G. J. Curtis & D M Lonsdale. 1989. A specific rearrangement of mitochondrial DNA induced by tissue culture. Theor. Appl. Genet. 77: 620-624.
3. Coumans – Gilles M.F., C.L. Kevers, M. Coumans, E. Ceulemans & T. Gasper. 1981. Vegetative multiplication of sugar beet through *in vitro* culture of inflorescence pieces. Plant Cell Tissue Organ Culture. 1: 93-101.
4. Ehlers U., U. Commandeur & R. Frank. 1991. Cloning of the coat protein gene from beet necrotic yellow vien virus and its expression in sugarbeet hairyroots. Theor. Appl. Genet. 81: 777-782.

5. Gambrog O. L. & R. A. Miller. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp Cell Res. 50: 151-158.
6. Gosak M. & M. Szota. 1992. Micropropagation of sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) Trisomics in *in vitro* culture. Genet. Polonica. 33(2): 115-118.
7. Jianfeng Z., L. Tianran & D. Xianglan. 1997. Highly efficient induction of sugarbeet plant regeneration. Chinese Journal of Biothchnology. 13(3): 185-191.
8. Joersbo M. & F.T. Okkels (1996) Calcium reduces toxicity of aminoglycoside antibiotics in sugarbeet explants in vitro. Physiol. Plant. 97: 245-250.
9. Krens F.A., A. Trifonova, L.C. Keizer & R. D. Hall. 1996. The effect of exogenously – applied phytohormones on gene transfer efficiency in sugarbeet. Plant Science. 116: 97-106.
10. Lindsey K. & P. Gallois. 1990. Transformation of sugarbeet by *Agrobacterium tumefaciens*. Journal of Experimental Botany. 41(226): 529-536.
11. Mikami T., T. Kinoshita & H. Saito. 1985. Clonal propagation of sugarbeet plants by apical meristem culture. Fac. Agr. Hokkaido univ, Sapporo 060, Japan. 62:325-333
12. Murashige T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
13. Sabir A. A. & B.V. Ford- lioyd. 1991. Processing crop plant germplasm *in vitro* for mass production of regenerants: a case study with beet. Journal of Biotechnology. 17: 257-268.
14. Saunders J.W. 1982. A flexible *in vitro* shoot culture propagation system for sugarbeet that includes rapid floral induction of ramets. Crop Science. 22: 1102-1105.

Iranian J. Agric. Sci. Vol.33, No.2, 2002

Investigating the Effect of Plant Hormones on Direct Shoot Regeneration from Sugar Beet Explants

P. NOROUZI[1], M. A. MALBOOBI[2] AND B. YAZDI-SAMADI[3]
1,3, Ph.D. Student and Professor, Faculty of Agriculture, University of Tehran
2, Assistant Professor, National Research Center for Genetic Engineering and Biotechnology
Accepted Nov. 14, 2001

SUMMARY

In order to investigate rapid and direct shoot regeneration, various explants of sugar beet were statistically tested. In the study, shoot tip, hypocotyl, cotyledon petiole, leaf petiole, leaves of seed- grown seedling and leaves of tissue cultured – shoot tip explants were used. Shoot tip explants of 10-day old seedlings produced 66% shoot in the medium containing 2 mg/l Benzyl Adenin (BA), 0.5 mg/l Naphtalen Acetic Acid (NAA) and 0.5mg/l Tri Ido Benzoic Acid (TIBA). A high rate (55%) of shoot regeneration was obtained from leaf petioles of 25-day old seedlings in the medium containing 1 mg/l BA and 1 mg/l NAA. In addition, leaves originated from tissue cultured shoot tips regenerated 42 shoots in total in the medium containing 1mg/l BA and 1mg/l NAA. No shoot was regenerated from hypocotyl, cotyledon petiole and seed – grown seedling leaves in the examined hormonal treatments with BA, NAA, TIBA and a combination of these hormones. The results suggest that shoot tips, leaf petioles and leaves of tissue – cultured – shoot tips in the media containing appropriate concentrations of BA, NAA and TIBA can be used for direct shoot regeneration with a frequency sufficient for fulfilling an important requirement for gene transformation in sugar beet.

Key words: Sugar beet, Shoot regeneration, Shoot tip, Leaf, Petiole.