



## کشت بافت و کشت بساک

این پنج گروه بیشترین تحقیقات را در کشت بافت گیاهی به خود اختصاص داده اند.

در حال حاضر تکنیک های کشت بافت از نظر تجاری جهت تکثیر رویشی گونه های مهم اقتصادی و تولید گیاهان هاپلوئید به منظور تولید ارقام جدید شناخته شده هستند. کشت بساک به عنوان یکی از روش های تولید گیاهان هاپلوئید با اهمیت است. اگر چه روش های دیگر برای تولید هاپلوئیدها وجود دارد، ولی استفاده از آنها بسیار نادر است.

این روش ها شامل: بروز خود به خودی هاپلوئیدی با فراوانی پایین، تیمار فیزیکی یا شیمیایی (اکسید نیتروژن)، حذف کروموزوم بدنال هیبریداسیون بین گونه ای.

کشت بساک و میکروسپور به عنوان روشی از کشت بافت، تولید گیاهان هاپلوئید را با القاء آندروژنز (ایجاد هاپلوئید از گامت نر) در سلول های هاپلوئید دانه گرده نابالغ فراهم می کند. شرح مراحل رشد و نمو میکروسپور با

برجسته هستند. بطور کلی فن آوری کشت بافت گیاهی را می توان به پنج دسته تقسیم کرد:

۱) **کشت کالوس:** کشت توده سلولی بر روی محیط آگار و تولید ریز نمونه از یک نهال و یا منبع گیاهی دیگر.

۲) **کشت سلولی:** کشت سلول ها در محیط کشت مایع در ظروفی که معمولا هوادهی می شوند.

۳) **کشت اندام:** کشت جنین، بساک (میکروسپور)، تخمدان ها، ریشه، شاخه، و یا دیگر اندام های گیاهی روی محیط کشت مغذی عاری از میکروارگانیسم ها.

۴) **کشت مریستم:** کشت مریستم ساقه و یا بافت ریزنمونه های دیگر در محیط کشت عاری از میکروارگانیسم و مواد مغذی به منظور رشد گیاهان کامل.

۵) **کشت پروتوپلاست:** کشت پروتوپلاست های گیاهی از سلول و بافت های گیاهی در محیط های عاری از میکروارگانیسم.

کشت بافت گیاهی برای بسیاری از تحقیقات علمی و همچنین بسیاری از جنبه های کاربردی علم گیاهی ضروری است. در گذشته، استفاده از تکنیک های کشت بافت گیاهی در تحقیقات علمی خصوصا، بررسی نقش هورمون ها در تمایز سلولی و اندام زایی صورت می گرفت. در حال حاضر، کشت بافت در بخش کاربردی گیاهی از جمله بیوتکنولوژی گیاهی و کشاورزی بکار گرفته می شود. مدیریت سلول های تغییر یافته ژنتیکی به شکل گیاهان تراریخت به کشت بافت نیاز دارد، گیاهان حاصل از کشت بافت که از نظر ژنتیکی دستکاری شده اند دیدگاهی نسبت به زیست شناسی مولکولی و تنظیم ژن فراهم می کنند. کشت بافت اغلب به عنوان سیستم "مدل" بررسی فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، ژنتیکی و مشکلات ساختاری مربوط به گیاهان را فراهم می کند و روشی است که به عنوان یک تکمیل کننده روش های کلاسیک در اصلاح گیاهان استفاده می شود. بنابراین، تکنیک های کشت بافت در علوم گیاهی آکادمیک و کاربردی

استفاده از میکروسکوپ نوری و الکترونی توسط محققان در متن های آناتومی گزارش شده است. گیاهان هاپلوئید به چند دلیل با اهمیت هستند. زیرا آنها دارای تنها یک مجموعه واحد کروموزوم بوده، که جهش مغلوب از نظر فنوتیپی در آنها قابل شناسایی است، می توان گیاهان دیپلوئید و پلی پلوئید صد درصد هموزیگوت ایجاد کرد این گیاهان در اصلاح نباتات با ارزش هستند. اصلاحگران گیاهی به تولید گیاهان هاپلوئید به دلایل دو برابر شدن خود به خودی تعداد کروموزوم از طریق آندومیتوز و یا استفاده از کلشی سین شیمیایی یا دیگر عوامل آنتی میوتیک علاقمند هستند، چرا که از طریق دو برابر کردن تعداد کروموزوم می توان گیاهان هموزیگوت تولید کرد. این گیاهان را می توان برای ویژگی های مطلوب انتخاب کرد و به عنوان والدین هیبرید، بدون نیاز به سه تا پنج نسل طبیعی برای تولید لاین های هموزیگوت پایدار استفاده نمود.

علاوه بر این، هاپلوئیدهای دو برابر شده برای نقشه برداری مولکولی مفید هستند. عوامل زیادی موفقیت کشت بساک را تحت تاثیر قرار می دهند. وضعیت فیزیکی گیاه بخشنده، تغذیه و سن فیزیولوژیکی گیاه، شرایط محیطی مانند دما و طول روز و ژنوتیپ (اگر چه برخی از ارقام به کشت بساک پاسخ نخواهند داد) بسیار مهم هستند. به طور کلی، بساک های حاصل از گل های اولیه بیشتر به کشت بساک پاسخ می دهند. مرحله تکاملی گرده نیز بسیار مهم است. معمولا مرحله تک هسته ای گرده بیشتر واکنش پذیر است. همچنین پیش تیمار غنچه گل (عموما  $5C^{\circ}$  برای چند ساعت تا چند روز) و یا تیمار کل گیاه در برخی از گونه های ضروری است. دانول (۱۹۷۶) نشان داد که شدت نور و طول روزی که گیاه بخشنده در آن رشد کرده است و همچنین درجه حرارت و مواد مغذی در هر دو محیط رشدی گیاه و محیط کشت می تواند عملکرد گیاهان هاپلوئید را

تحت تاثیر قرار دهد. بدیهی است گیاهان بخشنده که در گلخانه رشد کرده اند آسان تر از گیاهان کاشته شده در مزرعه تیمار می شوند. ترکیب مواد مغذی محیط کشت، از جمله فرمولاسیون نمک معدنی، منبع کربوهیدرات، گنجاندن کربن فعال به محیط کشت، غلظت تنظیم کننده رشد و ترکیباتی مانند عامل منعقد کننده محیط، نیز از عوامل حیاتی هستند. گاهی اوقات واکنش کردن و تغییرات محیط کشت و همچنین تغییرات در شرایط فیزیکی کشت مانند دما، شدت نور و طول روز مورد نیاز است.

گیاهچه های حاصل از کشت بساک می توانند هاپلوئید، دیپلوئید یا پلی پلوئید و در بسیاری از موارد آلبینو باشند. بنابراین چالش هایی از جمله واکنش پذیری بسیار کم برخی گونه ها به کشت بساک (گاهی اوقات به هزاران بساک برای هر تیمار نیاز است)، تولید پلی پلوئیدی را مشکل ساز کرده است.

#### منبع:

Roberta H, S. 2013. Plant Tissue Culture Techniques and Experiments (Third edition) Chapter 9: Haploid Plants from Anther Culture. Academic Press is an imprint of Elsevier. 105-112.