مقاله علمی پژوهشی
مجله دوفصل نامه
مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ۱۲، شماره ۲، پاییز و زمستان ۱۴۰۲
صفحه ۲۰۲-۱۹۵

10.61186/gebsj.12.2.195

Research Article
Genetic Engineering and Biosafety Journal 2024
Volume 12, Number 2, Pages: 195-202

http://gebsj.ir/

https://ecc.isc.ac/showJournal/23064

بهینه‌سازی شاخه زایی ارقام تجاری پنبه با استفاده از مریستم انتهایی

Regeneration Optimization of Cotton commercial cultivars using meristem apex culture

رسمیه حمید[1*]، زهرا قربان‌زاده[2]، حسن مرعشی[3]، سعید ملک‌زاده شفارودی[4]

Hamid Rasmieh*[1], Zahra Ghorbanzadeh[2], Hassan Marashi[3], Saeed Malekzadeh – shafaroudi[4]

۱- استادیار بخش به‌نژادی، موسسه تحقیقات پنبه کشور، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان.
۲- بخش زیست‌شناسی سامانه‌ها، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. ۳و ۴- بخش بیوتکنولوژی وبه نژادی گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، ایران

1. Department of Plant Breeding, Cotton Research Institute of Iran (CRII), Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, Iran
2. Department of Systems Biology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3,4. Department of Biotechnology and Plant Breeding, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: *Corresponding Author, Email
Rasihamid@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۳/۵ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۶/۷)
Received: 2023/05/26 | Accepted: 2023/08/29 | Published: 2024/03/14

چکیده

پنبه (*Gossypium hirsutum* L) یکی از مهمترین محصولات اقتصادی جهان است که به عنوان غنی‌ترین منبع فیبری و پایه اصلی روغن خوراکی محسوب می‌شود. ارقام‌های پنبه در مقایسه با دیگر گیاهان نسبت به پروتکل‌های مختلف باززایی، گیاهان سرسختی هستند. بنابراین تهیه پروتکلی با بازدهی بالا برای باززایی ارقام تجاری پنبه کشور ضروری است. در این پژوهش بذرهای ارقام ساحل، ورامین، خورشید، گلستان، لطیف، کاشمر و ارمغان مورد استفاده قرار گرفته است. مریستم‌های جداسازی شده در بر روی محیط اندام‌زایی شامل محیط تشکیل شده از نمک‌های MS و ویتامین‌های B5 و هورمون قرارداده شدند. شاخساره‌های تولید شده جهت پرآوری به محیط شاخه‌زایی منتقل شدند. در بین محیط‌های بررسی شده با توجه به اندازه‌گیری تعداد شاخساره و طول شاخساره مناسب‌ترین محیط برای شاخه‌زایی محیط حاوی ۲mg/l BAP و ۲mg/l kin بود. بیش‌ترین درصد شاخه‌زایی ۹۲ بوده و در ارقام مختلف تفاوت معنی‌داری نشان نداد. شاخساره‌های حاصل به منظور ریشه‌زایی به پنج نوع محیط ریشه‌زایی مختلف منتقل شدند. براساس نتایج حاصل از تجزیه آماری با اندازه‌گیری طول ریشه بهترین محیط برای ریشه‌زایی محیط حاوی نمک‌های MS و ویتامین‌های B5 به همراه ۱mg/l IBA بوده است که ۹۵ درصد ریشه‌زایی داشته است. تحقیق حاضر روشی سریع، پربازده و مستقل از ژنوتیپ جهت اندام‌زایی و شاخه‌زایی از مریستم انتهایی بهینه‌سازی شد. افزایش نرخ ریشه‌زایی و ارایه روشی مستقل از ژنوتیپ برای ریشه‌زایی از دیگر دستاوردهای این پژوهش است.

واژه‌های کلیدی

پنبه،
شاخه‌زایی،
ریشه‌زایی،
مریستم انتهایی

Hamid R, Ghorbanzadeh Z, Marashi H, Malekzadeh Shafaroudi S. Regeneration Optimization of Cotton commercial cultivars using meristem apex culture. Genetic Engineering and Biosafety Journal 2023; 12 (2) :195-202. Doi: 10.61186/gebsj.12.2.195
URL: http://gebsj.ir/article-1-460-fa.html

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 12, Number 2, 2024

Abstract

Cotton (*Gossypium hirsutum*. L) is an important economic crop worldwide, valued for its rich fibres and its role as a major source of edible oil. However, the resistance of cotton to conventional regeneration protocols is a challenge. Therefore, the development of efficient plant regeneration protocols for recalcitrant species such as cotton, especially from meristem apex explants, is crucial for the advancement of functional genomics and selective breeding using transformation technologies. In this study, we used seeds of Sahil, Varamin, Khurshid, Golestan, Latif, Kashmer and Armaghan varieties. The meristems isolated from these cultivars were cultured on a medium containing MS salts, B5 vitamins and hormones to induce organogenesis. The shoots were then transferred to a branching medium. Optimal branching was observed with a medium enriched with 2 mg/l BAP and 2 mg/l Kin, with no significant differences between varieties and a maximum branching level of 92. In addition, the shoots were transferred to five different rooting media. Statistical analysis showed that a medium containing MS salts, B5 vitamins and 1 mg/l IBA gave the highest rooting rate of 95%. Our study optimised a fast, productive and genotype-independent method for organogenesis and branching from the shoot tip in cotton. The improved rooting rate and the provision of a genotype-independent rooting method are further results of this research that promise significant advances in cotton regeneration protocols.

Keywords: Cotton, Direct regeneration, Shoot apex, Rooting

مقدمه

پنبه یکی از مهمترین محصولات اقتصادی جهان است که به عنوان غنی‌ترین منبع فیبری و پایه اصلی صنعت نساجی محسوب می‌شود (Hamid *et al*., 2018). بعلاوه، دانه پنبه برای استخراج روغن و نیز کنجاله پنبه‌دانه در تغذیه حیوانات استفاده می‌شود (Hamid *et al*., 2020a). پنبه زراعی متعلق به خانواده Malvaceae و جنس Gossypium بوده و گونه‌ای آمفی‌دیپلویید است. پنبه مانند دیگر گیاهان زراعی، متأثر از تنش‌های زیستی و غیرزیستی است. میزان خسارت سالیانه وارده به پنبه در اثر تنش‌های زیستی نسبت به دیگر گیاهان زراعی بیشتر بوده و حدود ۸۵–۷۶٪ است (Oerke., 2006). هر چند موفقیت‌های چشمگیری با استفاده از روش¬های اصلاح نباتات سنتی در مبارزه با تنش‌های غیرزیستی، افزایش عملکرد، بهبود کیفیت الیاف، نرعقیمی سیتوپلاسمی و تحمل به تنش گرما و غذایی تا حدی حاصل شده است (Hamid *et al*., 2019). اما دستاوردهای محدودی در رابطه با تنش‌های زیستی خصوصاً مقابله با آفات و بیماری‌ها گزارش شده است (Dutt *et al*., 2004). این امر می‌تواند ناشی از عدم دسترسی به ژن‌های مطلوب در ژرم‌پلاسم و دوره طولانی اصلاحی باشد. تکنیک‌های مهندسی ژنتیک به عنوان راه حلی مناسب جهت رفع این محدودیت‌ها هستند (Hamid *et al*., 2020b). از زمان رهاسازی اولین پنبه تراریخته کوکر ۲۱۰، و کوکر ۳۱۲ در سال ۱۹۸۷ چندین گزارش در مورد اصلاح صفات مختلف در سراسر جهان منتشر شده است (Noman *et al*., 2016) با وجود این دستاورهای ارزشمند هنوز محدودیت‌های جدی در بدست آوردن پنبه تراریخته وجود دارد که عمده‌ترین این محدودیت‌ها عدم وجود تکنیک‌های مناسب جهت تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاه است. اصلاح این گیاه با استفاده از تکنیک‌های نوین انتقال ژن از قبیل تفنگ ژنی و ترانسفورماسیون به وسیله اگروباکتریوم نیاز به روش باززایی مستقل از ژنوتیپ با کارایی بالا و بدون ایجاد تنوع سوماکلونال دارد. متاسفانه هیچکدام از ارقام ایرانی پتانسیل کافی برای توسعه پنبه تراریخته را ندارند. دلیل این امر عدم وجود پروتکل‌های کارآمد جهت باززایی است (Tohidfar *et al*., 1387). بنابراین تهیه پروتکل کارآمد برای اندام زایی مستقیم از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. دو روش اصلی برای باززایی پنبه شامل اندام‌زایی و جنین‌زایی سوماتیکی هستند (Michel *et al*., 2008). مطالعات جنین‌زایی سوماتیکی در پنبه نشان داده است که عوامل بسیاری کارایی جنین‌زایی سوماتیکی را

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

در مطالعات کشت بافت پنبه و دیگر گیاهان سرسخت تحت تاثیر قرار می‌دهند ژنوتیپ (Ishii *et al*., 1998)، والد دهنده ریزنمونه (Liu *et al*., 2011; Zhang *et al*., 2010)، انواع تنظیم کننده‌های رشدی (Jin *et al*., 20116)، محیط کشت (Kumar *et al*., 2015; Juturo *et al*., 2015)، زمان واکشت، تعداد نمونه‌های موجود در پتری دیش، نور و دما (Michel *et al*., 2008) و حتی عامل ژل‌کننده محیط (Zimmerman & Robacher., 1998) از جمله عواملی هستند که کارایی باززایی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اگر چه کارایی از طریق جنین‌زایی سوماتیکی به طور قابل توجهی در سال‌های اخیر بهبود یافته است، برخی از مشکلات همچنان باقی است. تنها تعداد محدودی رقم می‌توانند منجر به تولید جنین‌های سوماتیک و گیاهان باززا شوند، پاسخگوترین لاین‌ها انواع لاین‌های کوکراند، که دیگر زیر کشت نمی‌روند (Juturu *et al*., 2015). اندام‌زایی مستقیم بدون داشتن فاز کالوس از راهکارهای قابل توجه برای تکثیر درون شیشه‌ای سریع جهت بهره‌گیری در انتقال ژن و همچنین تولید مقیاس بالای گیاهان به لحاظ داشتن مزایایی چون صرفه جوئی در زمان، سادگی، ثبات ژنتیکی و پایین بودن تنوعات سوماکلونی است (Muchke *et al*., 2012).

براساس بررسی منابع انجام شده تاکنون مطالعات اندکی در مورد شاخه‌زایی با کارایی‌بالا ارقام ایرانی پنبه انجام شده است. لذا در این مطالعه پتانسیل اندام‌زایی، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی هفت رقم تجاری پنبه با استفاده از ریزنمونه مریستم انتهایی در غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد مورد بررسی قرارگرفت. هدف از این مطالعه معرفی یک روش کارآمد، سریع، مستقل از ژنوتیپ جهت اندام‌زایی مستقیم و شاخه‌زایی از مریستم انتهایی پنبه است.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و ضدعفونی و استقرار ریزنمونه:

این پژوهش در سال ۱۴۰۰ انجام شد. در این پژوهش بذرهای ارقام ساحل، ورامین، خورشید، گلستان، لطیف، کاشمر و ارمغان از موسسه تحقیقات پنبه گرگان تهیه شدند. کرک‌زدایی بذور با استفاده از اسید سولفوریک ۹۶ درصد به مدت ۲۰ تا ۳۰ ثانیه انجام شد. پس از کرک‌زدایی بذور به مدت ۴۰ دقیقه آب‌شویی شدند سپس بذور ابتدا با الکل ۷۵ درصد به مدت یک دقیقه و سپس در محلول ۲۰ درصد هیپوکریت سدیم به مدت ۴۰ دقیقه ضدعفونی شدند. پس از ضدعفونی سطحی بذور ۵-۳ بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. پس از خشک شدن سه تا چهار بذر در لوله آزمایشی حاوی محیط یک دوم MS و در محیط تاریکی با دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند.

جداسازی مریستم و تهیه محیط‌های اندام‌زایی:

جداسازی مریستم از گیاهچه‌های ۴-۳ روزه مطابق روش زاپاتا و همکاران (Zapata *et al*., 1999) صورت گرفت. در این روش پس از حذف برگ‌های کوتیلدنی به کمک سوزن‌های باریک دو برگ اولیه جدا شدند و مریستم که بین این دو برگ بود خارج شد. مریستم‌های جدا سازی شده در محیط اندام‌زایی حاوی محیط پایه MS و ویتامین های B5 و هورمون‌های ویژه (MS+ B5 vit+ 0.1 mg/l NAA+ 0.1 mg/l BAP+ 30 g/l glucose + 3g/l charcoal + 2.5 g/l phytagel) قرار داده شدند. کشت‌ها در اتاقک کشت با دمای ۲۸±۲ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. نمونه‌ها هر دو هفته یکبار به محیط جدید واکشت شدند.

شاخه‌زایی:

شاخساره‌های تولید شده پس از رسیدن به رشد کافی (دو هفته)، جهت القاء پرآوری شاخساره به محیط MS با ویتامین‌های B5 که شامل سه درصد گلوکز، ۰/۰۳ درصد زغال فعال و غلظت‌های متفاوت KIN (۲/۰-۰/۰) میلی‌گرم در لیترو BAP (۲/۰-۰/۰) میلی‌گرم در لیترومنتقل شدند (جدول ۱). کشت‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲۵±۲ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

ریشه‌زایی:

شاخساره‌های به طول ۲-۲/۵ سانتی‌متری برای ریشه‌زایی به دو نوع محیط ریشه‌زاییMS و1/2MS به همراه هورمونIBA در غلظت‌های ذکر شده در جدول شماه ۲ منتقل شدند و پس از ۳-۲ هفته صفات طول ریشه و درصد ریشه‌زایی اندازه گیری شدند. پس از ریشه‌زایی گیاهچه‌هایی که سیستم ریشه‌ای آن‌ها به خوبی توسعه یافته بود به گلدان‌های کوچک حاوی نسبت یک به یک

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

شن و ورموکولیت منتقل شدند. هر کدام از گلدان‌ها با استفاده از یک کیسه پلاستیکی که رطوبت بالا را برای گیاهان حفظ می‌کند پوشانده شدند. به منظور سازگار کردن گیاهچه‌ها هر ۵ روز یکبار منفذهایی در کیسه پلاستیکی ایجاد شد، پس از دوهفته گیاهچه‌هایی که سیستم ریشه‌ای آن‌ها به خوبی توسعه و سازگاری یافته بود به گلدان حاوی نسبت‌های مساوی پیت ماس، شن و ورمی کولیت منتقل شدند.

آنالیز آماری:

صفات مورد اندازه‌گیری در این مطالعه شامل شروع شاخه‌زایی، درصد گیاهچه‌های نرمال، طول گیاهچه‌ها، تعداد شاخه‌های جانبی، طول ریشه‌چه و درصد ریشه‌زایی بودند. تیمارها دارای چهار تکرار آزمایشی بودند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی انجام و مقایسه میانگین براساس آزمون FLSD صورت گرفت. محاسبات آماری با استفاده از نرم افزارهایEXCEL وSPSS انجام شد.

نتایج و بحث

تهیه یک پروتکل کارآمد برای باززایی و شاخه‌زایی مستقل از ژنوتیپ گیاهان زراعی ضروری است. با وجود گزارشات متعدد از اندام‌زایی ریزنمونه‌های مختلف (هیپوکوتیل، کوتیلدن و مریستم) رقم کوکر پنبه از طریق جنین‌زایی سوماتیکی، (Khan *et al.*, 2010) گزارشات بسیار نادری از شاخه‌زایی ارقام تجاری وجود دارد (Obembe., 2011). در این مطالعه روشی با کارایی بسیار بالا برای شاخه‌زایی ارقام تجاری کشور بهینه‌سازی شد. این واریته‌ها به لحاظ سازگاری با شرایط جوی کشور، میزان تولید و کیفیت الیاف اهمیت تجاری بسیار بالایی دارند. در این مطالعه مریستم‌ها در شرایط کاملا استریل از گیاهچه‌های ٤-٣ روزه جداسازی شدند (شکل ۱ A-B). مریستم‌های ۳-۲ میلی‌متری به صورت عمودی بر روی محیط اندام‌زایی (که در مطالعه قبل بهینه سازی شده بود) قرار داده شدند (شکل ۱-C) حدودا پس از دو هفته (۱۰ روز) مریستم‌ها ساقه‌چه و برگ تولیدکردند. گیاهچه‌های حاصل به محیط شاخه‌زایی منتقل‌شدند. ایجاد ساختارهای ساقه‌مانند و برگی شکل ار کنار جوانه انتهایی گیاهچه‌ها پس از ۱۰ روز شروع به ظهور کردند(شکل ۱-D).

نتایج حاصل از کاربرد BAP و KIN بر روی میزان شاخه‌زایی مریستم‌های هر هفت رقم معنی‌دار بود (در سطح ٪۵). در این مطالعه اثر رقم بر میزان شاخه‌زایی معنی‌دار نبود و ارقام مختلف در ترکیبات هورمونی مختلف از نظر میزان شاخه زایی مشابه بودند (جدول ۱) به طور کلی در میانگین ارقام بین محیط کشت‌های مختلف از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌دار مشاهد نشد. فراوانی تشکیل شاخساره‌ها تحت تاثیر غلظت و نوع فیتوهورمون‌های به کاررفته قرارگرفت نتایج در جدول ۱ نشان داده شده‌اند. بیشترین میزان شاخه‌زایی در غلظت هومونی 2 mg/l BAP , 2 mg/l KIN مشاهده شد (جدول ۱ و ۲). BAP به تنهایی به عنوان محرک تولید شاخه‌های جانبی از بافت‌های مریستمی شناخته شده است (Hagio., 2002) غلظت‌های کم BAP و KIN منجر به کاهش تعداد شاخه‌های ایجاد شده از گیاهچه می‌شود. زمانی که BAP به تنهایی در غلظت های پایین (1mg/l) به محیط اضافه شود منجر به افزایش یک شاخه به ازای هر ریز نمونه می‌شود در حالی که در غلظت های بالاتر (2mg/l) بیشترین تعداد شاخه جانبی (۱۲) ایجاد می‌شود (جدول ۲). به طور مشابه کاربرد KIN در غلظت های کم (1mg/l) منجر به کاهش تعداد شاخه جانبی می‌شود، در حالی که غلظت‌های بیشتر میزان شاخه‌زایی را افزایش داد. تحت تیمار هورمونی KIN و BAP در غلظت‌های پایین (1mg/l) حداکثر (٤-٥) شاخه به ازای هر ریزنمونه تولیدشد (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخه جانبی (۱۲) در ترکیب هورمونی 2 mg/l BAP و2 mg/l KIN حاصل شد. در این ترکیب هورمونی شروع شاخه‌زایی در زمان کمتری رخ داد، و شاخه‌های ایجاد شده سالم و طبیعی بودند. سیتوکنین‌ها به ویژه BAP نقش اصلی در ایجاد شاخه‌های فرعی دارند. در نخود (*Vigna unguiculata*) و خیار (*Cucumis sativus*) شاخه‌های متعدد از ناحیه انتهایی ریز نمونه هیپوکوتیل در رژیم هورمونی مشابه ایجاد شد که نشان می‌دهد این پدیده در در دولپه‌ای‌ها پدیده‌ای معمول است (Barar *et al.*, 1999; Muhiudin *et al.*, 1997). راف و همکاران (۲۰۰٤) و اوزایگست و همکاران (۲۰۰۸) در پنبه (رقم Coker 310FR) ریزنمونه‌های هیپوکوتیل و کوتیلدن را برای اندام‌زایی و القای شاخه‌زایی به کار بردند (Rauf *et al.*, 2004; Ozygit *et al.*, 2008). عبدالطیف و همکاران

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

(۲۰۰۸) با کاربرد غلظت‌های مساوی از KIN و BAP در شاخه‌زایی از گره کوتیلدنی را به ازای هر ریز نمونه ایجاد ۵-٦ شاخساره را گزارش کردند (Abdollatef & Khalafalla., 2008). اگراول و همکاران (۱۹۹۷) گزارش مشابهی از به کار بردن KIN و BAP در شاخه‌زایی ریز نمونه‌های گره کوتیلدنی ارائه کردند (Agrawal *et al*., 1997). هزرا و همکاران (۲۰۰۱) با به کار بردن BAP به تنهایی تولید ۳/۵ تا ۵/۱ شاخساره به ازای هر ریز نمونه را گزارش دادند (Hazra *et al*., 2001). موشکه و همکاران (۲۰۱۲) از غلظت‌های پایین BAP برای القای شاخه‌زایی استفاده کردند (Mushke *et al*., 2012). شاخه‌های ایجاد شده به مدت دو هفته جداسازی و به محیط رشد طولی (MS+ 2.5mg/l GA3 -1) منتقل شدند (شکل E-1)، بهترین غلظت برای رشد طولی غلظت (2mg/l) بود.

گیاهچه‌هایی که به خوبی توسعه یافته بودند، به ٦ نوع محیط مختلف ریشه‌زایی که شامل غلظت‌های مختلف IBA بودند، منتقل شدند. اثر اکسین بر میزان ریشه‌زایی در جدول (۳-٤) نشان داده شده است. سطح قابل توجهی از ریشه‌زایی در محیط MS و MS ½ مشاهده شد میزان ریشه‌زایی در این دو محیط مشابه و ۹۰ درصد بود، اما بیشترین طول ریشه ۸/۳ سانتی‌متر بود که در محیط (MS+ 1mg/l IBA) مشاهد شد. ریشه‌زایی معمولا ۱۵-۱۰ روز بعد از انتقال گیاهچه‌ها به محیط ریشه‌زایی رخ داد. ریشه‌زایی پنبه یکی از مشکلات کشت بافت این گیاه است، و گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت یا ریشه‌دار نمی‌شوند یا نرخ ریشه‌زایی بسیار پایین است بنابراین روش‌های مختلفی همچون تنش غذایی، استفاده از غلظت بیشتر عامل ژل کننده، اضافه کردن غلظت‌های کم اکسین و اضافه کردن زغال فعال برای القای ریشه‌زایی در این گیاه به کار رفته است (Juturu *et al*., 2015). سپس گیاهچه‌های ریشه‌دار شده وارد مرحله سازگاری با محیط شدند (شکل ۲).

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات شاخه‌زایی در بررسی تأثیر رقم و تنظیم‌کننده رشد (BAP و kin) در مریستم انتهایی پنبه

Table 1. ANOVA Results of branching traits in assesment of cultivar and phytohormone (BAP and kin) in terminal meristems of cotton

Sources of variation	df	branching
Block	3	**0.13^{ns}**
Cultivar	6	**۰.۱۳^{ns}**
BAP	2	**0.41***
kin	2	**0.25***
kin ❋BAP	4	**0.58***
BAP❋ Cultivar	12	**0.56^{2s}**
kin❋ Cultivar	12	**0.31^{ns}**
kin ❋ BAP❋ Cultivar	24	**0.59^{ns}**
Experimental error	21	**0.21^{ns}**
CV (%)		**0.38**

توجه: ns و ❋ به‌ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

Note: ns, * and **: Not significant, significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

جدول ۲- اثر فیتوهورمون های BAP و KIN بر شاخه زایی مریستم های انتهایی پنبه

Table 2. The effect of phytohormones BAP and KIN on the branching of terminal meristems of cotton

Treatment	BAP (mg/l)	kin (mg/l)	N.m of branch	seedling Length (cm)	Seedling response to branching (%)
1	0	0	0.00f	0.00 ±0.0f	00
2	0	1	2±0.7ef	2.1 ±0.8e	60.1
3	0	2	3.7±0.7cd	2.6 ±0.5e	59.8
4	1	0	2.5±0.5e	3.5±0.7d	67.5
5	1	1	3.2±1.7d	4.5±0.9c	66.5
6	1	2	2.0±0.7ef	2.1±0.6b	60.1
7	1.5	0	4.5±1.1c	3.7±0.7d	65.5
8	1.5	1	3.1±0.9d	2.1±0.8e	58.4
9	1.5	2	8.0±1.3b	5.5±1.1ab	62.7
10	2	0	3.7±0.8cd	5.5±0.7ab	75.4
11	2	1	2.6±1.4e	3.7±0.7d	67.2
12	2	2	9.2±1.7a	6.2±1.0a	92.5

*توجه: در هر ستون حروف مشابه، عدم تفاوت معنی‌دار تیمارها را در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن نشان می‌دهد.

*Note: In each column, similar letters indicate the lack of significant difference between treatments at the 1% probability level of Duncan's multiple range test.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات ریشه‌زایی در بررسی تأثیر رقم و محیط و تنظیم‌کننده رشد (IBA) در ‘گیاهچه‌های پنبه

Table 3. ANOVA results of rooting traits in assesment of cultivar, media and phytohormone (IBA) in cotton seedlings

Sources of variation	**df**	**Rooting**
Block	3	**0.18^{ns}**
Cultivar	6	**0.21^{ns}**
IBA	5	**0.65****
IBA*Cultivar	29	**0.23^{ns}**
Media	1	**0.44***
IBA*Media	5	**0.58****
Cultivar* IBA *Media	30	**0.30^{ns}**
Experimental error	21	**0.32^{ns}**
CV (%)		**0.56**

جدول ٤- اثر اکسین در ریشه‌زایی گیاهچه‌های پنبه

Table 4. Effect of auxin in rooting of cotton seedlings

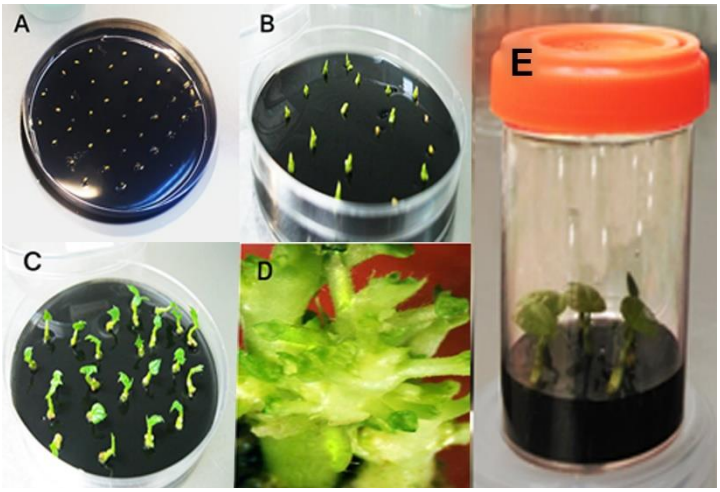
Treatment	**Culture**	**IBA (mg/l)**	**Rooting%**	**Root length (cm)**
1	1/2MS	0.0	90	5.1±0.4b
2	1/2MS	1.0	90	7.3±1.5ab
3	MS	0.5	90	5.5±1.2b
4	MS	1	95	8.3±0.7a
5	MS	1.5	40	3.5±1.3c
6	MS	2	5	1.0±0.5d

*توجه: در هر ستون حروف مشابه، عدم تفاوت معنی¬دار تیمارها را در سطح احتمال ۱٪ براساس آزمون چند دامنه ای دانکن نشان می دهد.

*Note: In each column, similar letters indicate the lack of significant difference between treatments at the 1% probability level of Duncan's multiple range test.

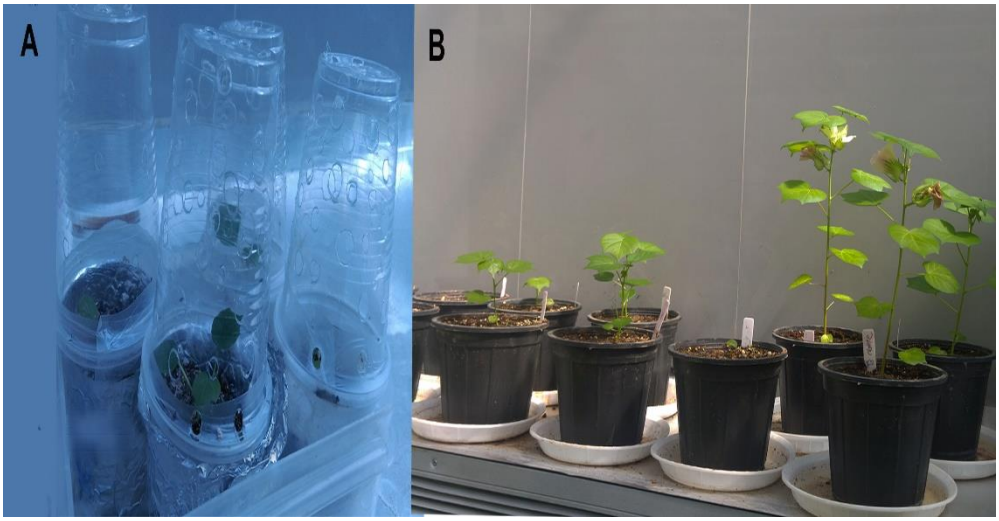
[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]



شکل ۱- مراحل مختلف کشت مریستم انتهایی پنبه (A-B): جداسازی مریستم‌ها (C): کشت مریستم‌ها در محیط اندام‌زایی (D) شاخه‌زایی (E) کشت گیاهچه‌ها در محیط طویل شدن

Figure 1. Different stages of cotton terminal meristem culture (A-B): Isolation of meristems (C): Cultivation of meristems in organogenesis medium (D) Branching (E) Seedlings cultured in elongation medium



شکل ۲- سازگاری با محیط (A-B): انتقال گیاهچه های ریشه دار به گلدان

Figure 2. Adaptation to the environment (A-B): transferring the rooted seedlings to the pot

در این مطالعه یک روش با کارایی بسیار بالا برای شاخه‌زایی (۱۱ شاخه با ازای هر ریزنمونه) و ریشه‌زایی (۹۰ درصد) ارقام تجاری پنبه کشور با استفاده از ریز نمونه مرستم انتهایی توسعه یافت. در این روش مدت زمان گرفتن ریزنمونه تا انتقال گیاهچه‌ها به گل خانه ۹ –۸ هفته بود که این مدت زمان در مقایسه با گزارشات قبلی استفاده از جنین‌زایی سوماتیکی و حتی ریز نمونه مریستم بسیار کوتاه‌تر است. مهترین نتیجه حاصل از این تحقیق کوتاه‌تر کردن دوره کشت بافت به حدود ۸ هفته و همچنین افزایش نرخ باززایی تا ۱۰۰ و نرخ ریشه‌زایی تا ۹۰ درصد است. همچنین قابل توجه است که پاسخ سایر ارقام به شاخه‌زایی مشابه بود.

سپاسگزاری

از ریاست محترم پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی(ABRII) برای فراهم کردن هزینه و امکانات این پژوهش سپاسگزاری می‌شود.از آقای دکتر زنگی عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات پنبه گرگان به خاطر فراهم کردن بذر این تحقیق قدردانی می شود.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]
[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

منابع

Abdellatef, E., & Khalafalla, M. M. (2008). Ethylene inhibitors promote in vitro regeneration of medium staple cotton (Gossypium hirsutum L.) cultivar Barac B-67. *Advances in Natural and Applied Sciences*, *2*(3), 178-184. DOI: 850053cd32b8aa498ed630fc8c24c377907368a6

Agrawal, D. C., Banerjee, A. K., Kolala, R. R., Dhage, A. B., Kulkarni, A. V., Nalawade, S. M., ... & Krishnamurthy, K. V. (1997). In vitro induction of multiple shoots and plant regeneration in cotton (Gossypium hirsutum L.). *Plant Cell Reports*, *16*, 647-652. DOI: 10.1007/BF01275508

Brar, M. S., Moore, M. J., Al-Khayri, J. M., Morelock, T. E., & Anderson, E. J. (1999). Ethylene inhibitors promote in vitro regeneration of cowpea (Vigna unguiculata L.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *35*, 222-225. DOI: 10.1007/s11627-999-0082-1

Dutt, Y., Wang, X. D., Zhu, Y. G., & Li, Y. Y. (2004). Breeding for high yield and fibre quality in coloured cotton. *Plant Breeding*, *123*(2), 145-151. DOI: 10.1046/j.1439-0523.

Ganesan, M., & Jayabalan, N. (2005). Carbon source dependent somatic embryogenesis and plant regeneration in cotton, Gossypium hirsutum L. cv. SVPR2 through suspension cultures. DOI: 10.1007/BF16235728

Hagio, T. (2002). Adventitious shoot regeneration from immature embryos of sorghum. *Plant cell, Tissue and organ culture*, *68*, 65-72. DOI: 10.1023/A: 1012918316140

Hamid, R., Jacob, F., Marashi, H., Rathod, V., & Tomar, R. S. (2020). Uncloaking lncRNA-meditated gene expression as a potential regulator of CMS in cotton (Gossypium hirsutum L.). *Genomics*, *112*(5), 3354-3364. DOI: 10.1016/j.ygeno.2020.06.027

Hamid, R., Marashi, H., Tohidfar, M., & Malekzadeh, S. S. (2018). Optimization of regeneration and parameters affecting Agrobacterium-mediated transformation of commercial cultivar of cotton (Gossypium hirsutum L.). *Genetic novin*, *12*(4), 606-597. DOI: 20.1001.1.20084439.1396.12.4.11.7

Hamid, R., Marashi, H., Tohidfar, M., & Malekzadeh, S. S. (2020). Transgenic cotton expressing synthesized antifungal NaD1 gene confers enhanced resistance to fusarium wilt and verticillium wilt. *Genetic novin*, 297-308. DOI: 20.1001.1.20084439.1398.14.4.5.5

Hamid, R., Marashi, H., Tomar, R. S., Malekzadeh Shafaroudi, S., & Sabara, P. H. (2019). Transcriptome analysis identified aberrant gene expression in pollen developmental pathways leading to CGMS in cotton (Gossypium hirsutum L.). *PloS one*, *14*(6), e0218381. DOI: 10.1371/journal.pone.0218381

Hamid, R., Tomar, R. S., Marashi, H., Shafaroudi, S. M., Golakiya, B. A., & Mohsenpour, M. (2018). Transcriptome profiling and cataloging differential gene expression in floral buds of fertile and sterile lines of cotton (Gossypium hirsutum L.). *Gene*, *660*, 80-91. DOI: 10.1016/j.gene.2018.03.070

Hazra, S., Agrawal, D. C., Banerjee, A. K., Krishnamurthy, K. V., & Nalawade, S. M. (2001). Induction of multiple shoots and plant regeneration from 'accessory buds' of nodal Segments from field-grown mature cotton plants (Gossypium hirsutum l.). *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, *37*, 830-834. DOI: 10.1007/s11627-001-0138-3

Ishii, Y., Takamura, T., Goi, M., & Tanaka, M. (1998). Callus induction and somatic embryogenesis of Phalaenopsis. *Plant Cell Reports*, *17*, 446-450. DOI: 10.1007/s002990050423.

Jin, S., Zhang, X., Nie, Y., Guo, X., Liang, S., & Zhu, H. (2006). Identification of a novel elite genotype for in vitro culture and genetic transformation of cotton. *Biologia Plantarum*, *50*, 519-524. DOI: 10.1007/s10535-006-0082-5

Juturu, V. N., Mekala, G. K., & Kirti, P. B. (2015). Current status of tissue culture and genetic transformation research in cotton (Gossypium spp.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *120*, 813-839. DOI: 10.1007/s11240-015-0723-5

Khan, T., Reddy, V. S., & Leelavathi, S. (2010). High-frequency regeneration via somatic embryogenesis of an elite recalcitrant cotton genotype (Gossypium hirsutum L.) and efficient Agrobacterium-mediated transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *101*, 323-330. DOI: 10.1007/s11240-010-9691-y

Kumar, G. P., Subiramani, S., Govindarajan, S., Sadasivam, V., Manickam, V., Mogilicherla, K., ... & Narayanasamy, J. (2015). Evaluation of different carbon sources for high frequency callus culture with reduced phenolic secretion in cotton (Gossypium hirsutum L.) cv. SVPR-2. *Biotechnology Reports*, *7*, 72-80. DOI: 10.1016/j.btre.2015.05.005

Liu, J. F., Wang, X. F., Li, Q. L., Li, X., Zhang, G. Y., Li, M. G., & Ma, Z. Y. (2011). Biolistic transformation of cotton (Gossypium hirsutum L.) with the phyA gene from Aspergillus ficuum. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, *106*, 207-214. DOI: 10.1007/s11240-010-9908-0

Michel, Z., Hilaire, K. T., Mongomaké, K., Georges, A. N., & Justin, K. Y. (2008). Effect of genotype,

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]

Touhidfar, M., Gharahyazi, B., Mousavi, M., Yazdani, S., & Golabchian, R. (2008). Agrobacterium-mediated transformation of cotton (Gossypium hirsutum) using a synthetic cry1Ab gene for enhanced resistance against Heliothis armigera. *Iran. J. Biotechnol*, 6(3), 164-173

Tripathy, S., & Reddy, G. M. (2002). A study on the influence of genotype, medium and additives on the induction of multiple shoots in Indian cotton cultivars. *Asian Jr of Microbiol Biotech Env Sc*, 4(4), 515-519. DOI:

Zapata, C., Park, S. H., El-Zik, K. M., & Smith, R. H. (1999). Transformation of a Texas cotton cultivar by using Agrobacterium and the shoot apex. *Theoretical and Applied Genetics*, 98, 252-256. DOI: 10.1007/s001220051065

Zhang, Q., Wang, J. E., Lin, J., Yan, S. F., Wu, D. P., Qin, L., ... & Zhu, S. J. (2010). Effects of different gelling agents on the somatic embryogenesis and plant regeneration in upland cotton. *MianHua XueBao (Cotton Science)*, *22*(1), 3-9. DOI: 10.1023/A:1006488119200

Zimmerman, T. W., & Robacker, C. D. (1988). Media and gelling agent effect on cotton callus initiation from excised seed hypocotyls. *Plant cell, tissue and organ culture*, *15*, 269-274. DOI: 10.1007/BF00033650

explants, growth regulators and sugars on callus induction in cotton (Gossypium hirsutum L.). *Australian Journal of Crop Science*, *2*(1), 1-9. DOI: 10.1007/s1347247-010-9908-0.

Mohiuddin, A. K. M., Chowdhury, M. K. U., Abdullah, Z. C., & Napis, S. (1997). Influence of silver nitrate (ethylene inhibitor) on cucumber in vitro shoot regeneration. Plant cell, tissue and organ culture, 51, 75-78. DOI: 10.3923/rjb.2006.110.117

Mushke, R., Sultana, T., & Pindi, P. K. (2012). High frequency regeneration and multiple shoot induction in indian cotton (Gossypium hirsutum L.) cultivar. *Research Journal of Agricultural Sciences*, 3(5), 1109-1112.

Obembe, O. O., Khan, T., & Popoola, J. O. (2011). High frequency multiple shoots induction and plant regeneration in six elite Indian cotton cultivars. *Can J Pure Appl Sci*, 5(1), 1385-1389. ISSN 1715-9997

Oerke, E. C. (2006). Crop losses to pests. *The Journal of agricultural science*, 144(1), 31-43. DOI: 10.1017/S0021859605005708

Rauf, S., Usman, M., Fatima, B., Khan, I. A., & Khan, I. A. (2004). In vitro regeneration and multiple shoot induction in upland cotton (Gossypium hirsutum L.). *Int. J. Agric. Biol*, 4, 704-7. DOI:98e38229ba9246ed8a2ef1608851890c73

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-05-31]

[DOI: 10.61186/gebsj.12.2.195]