ریزازدیادی آگلونما توسط BA، 2-iP، TDZ و NAA

بهزاد کاویانی*[۱]، صدیقه روحی[۱]، ناصر نگهدار[۱،۲]، شیما صیدی[۱،۲] و محسن محمدی[۱،۲]
[۱] گروه باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران
[۲] موسسه‌ی تحقیقاتی علوم کشاورزی و بیوتکنولوژی هیرکان، آمل، ایران
*نویسنده مسئول: b.kaviani@yahoo.com

چکیده

این مطالعه روی ازدیاد درون‌شیشه‌ای آگلونما *(Aglaonema sp.)* یک گیاه زینتی انجام شد. ریزنمونه‌ی سرشاخه روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) قرار داده شد. سه نوع تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی سیتوکینینی (BA, 2-iP, TDZ) و یک نوع تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی اکسینی (NAA) برای بررسی اثرشان روی ریزازدیادی آگلونما مطالعه شدند. نتایج نشان داد که تیمار ۳ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، بالاترین میزان تکثیر سرشاخه را موجب شد. بیشترین تعداد ریشه روی محیط کشت حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. ترکیب ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مناسب‌ترین ترکیب هورمونی برای القای بالاترین طول ریشه بود. گیاهچه‌های تولیدشده در شرایط درون‌شیشه‌ای به گلدان‌ها منتقل شدند و در شرایط گلخانه‌ای با موفقیت ۹۵ درصد رشد کردند.

***واژه‌های کلیدی:* آراسه، ازدیاد درون‌شیشه‌ای، گیاهان زینتی، کشت بافت**

مقدمه

آگلونما به‌عنوان یک گیاه زینتی برگی تولید و تکثیر می‌شوند. تولیدمثل جنسی آگلونما مشکل است و در آن عوامل بیماری‌زای درون‌زا وجود دارد. ریزازدیادی یک فن ازدیاد رویشی پیشرفته برای تولید تعداد زیادی نشای یک‌شکل عاری از عوامل بیماری‌زا در یک دوره‌ی زمانی کوتاه و فضای کم است. در بسیاری از مطالعات ریزازدیادی، تیمارهای زیادی، به‌ویژه نوع و میزان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای یافتن بهترین روش جهت به‌دست‌آوردن دستورالعمل خوب مورد آزمایش قرار می‌گیرند (Jain and Ochatt, 2010). چند مطالعه روی ریزازدیادی آگلونما انجام شده است، اما موفقیت پایین است که علل اصلی آن مشکل در ایجاد کشت گندزدا، فقدان اطلاعات تکنیکی و میزان پایین تکثیر سرشاخه می‌باشد (Chen and Yeh, 2007; Fang et al., 2013). بنابراین، هدف از مطالعه‌ی حاضر دستیابی به یک دستورالعمل مناسب برای ریزازدیادی سریع آگلونما با استفاده از ریزنمونه‌ی سرشاخه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بود.

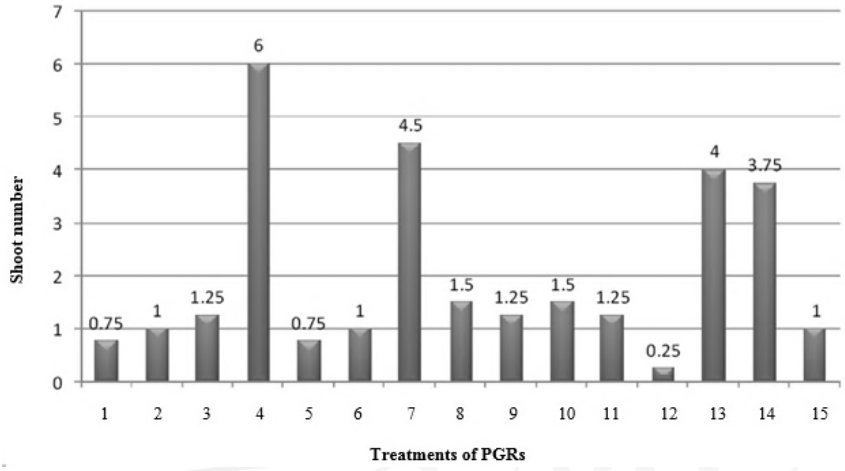
مواد و روش‌ها

گیاه زینتی آگلونما از گلخانه‌ای در شمال کشور تهیه شد. جوانه‌های رأسی به‌عنوان ریزنمونه به‌ترتیب به‌مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد، ۳۰ دقیقه با ۰/۱ گرم در لیتر اسید آسکوربیک، ۷-۶ ثانیه با الکل ۷۰ درصد و در نهایت به‌مدت ۱۰ دقیقه در هر یک از محلول‌های ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شدند. در نهایت، ریزنمونه‌های ضدعفونی‌شده، سه‌بار به‌ترتیب به‌مدت ۱۵، ۱۰ و ۵ دقیقه با آب مقطر استریل شسته شدند. ریزنمونه‌ها در محیط موراشیگ و اسکوگ (۱۹۶۲) به‌همراه ترکیبی از ۰، ۰/۱، ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر از NAA، ۰، ۳، ۳/۵ و ۴ میلی‌گرم در لیتر از BA، ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰ و ۷ میلی‌گرم در لیتر 2-iP (۱۵ تیمار) کشت شدند. این محیط‌ها همچنین دارای ۰/۸ درصد آگار-آگار و ۳ درصد ساکارز بودند. اسیدیته (pH) محیط بر روی ۵/۸-۵/۶ تنظیم گردید. محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به‌مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شدند. محیط‌های کشت حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد تحت فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۲۴ درجه‌ی سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰-۷۵ درصد و جریان تراکم فتون فتوسنتزی ۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند. ریزنمونه‌ها هر سه

هفته واکشت شدند. عمل واکشت ۴ بار انجام شد. پس از ۹۰ روز، صفات طول شاخساره، تعداد شاخساره، تعداد ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شدند. برای سازگاری، گیاهچه‌های بالغ با آب مقطر استریل شسته شدند و به گلدان‌های پلاستیکی حاوی پیت، پرلیت و کوکوپیت به نسبت ۱:۱:۱ منتقل گردیدند. گلدان‌ها در یک گلخانه با دمای ۲۷-۲۶ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد با آبیاری دوره‌ای نگهداری شدند. سازگاری گیاهچه‌های تولیدشده در شرایط درون‌شیشه‌ای به شرایط برون‌شیشه‌ای، ۲ هفته به طول انجامید. این آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۱۵ تیمار، ۳ تکرار و ۵ مشاهده انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد و رسم نمودارها با برنامه‌ی Excel انجام گرفت.

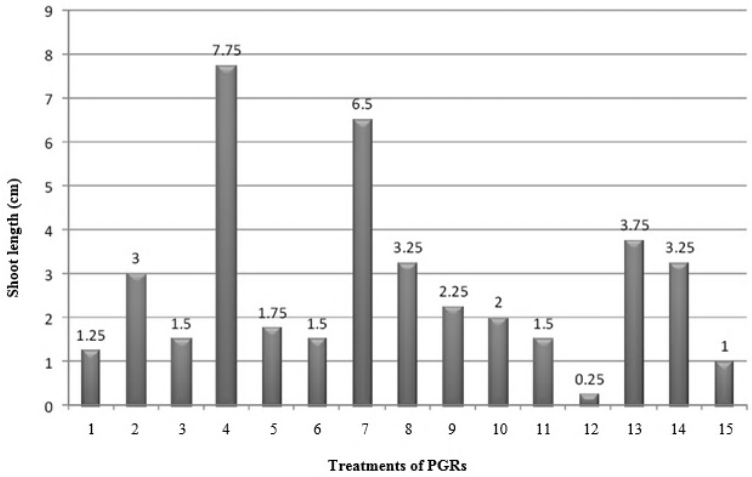
نتایج

محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۳ میلی‌گرم در لیتر BA برای تکثیر شاخه بهترین بود. روی این محیط، ۶ شاخه در ریزنمونه تولید شد. در محیط کشت حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ و محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ به‌ترتیب با تولید ۴/۵، ۴ و ۳/۷۵ شاخه در ریزنمونه شاخه‌ی کمتری تولید شد (شکل ۱). هورمون 2-iP در مقایسه با BA و TDZ اثر کمتری روی القا و ازدیاد شاخه داشت. کمترین تعداد شاخه (۰/۲۵ در ریزنمونه) هنگامی تولید شد که جوانه‌های رأسی روی محیط کشت حاوی ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA و محیط کشت بدون حضور TDZ قرار داده شدند (شکل ۱).



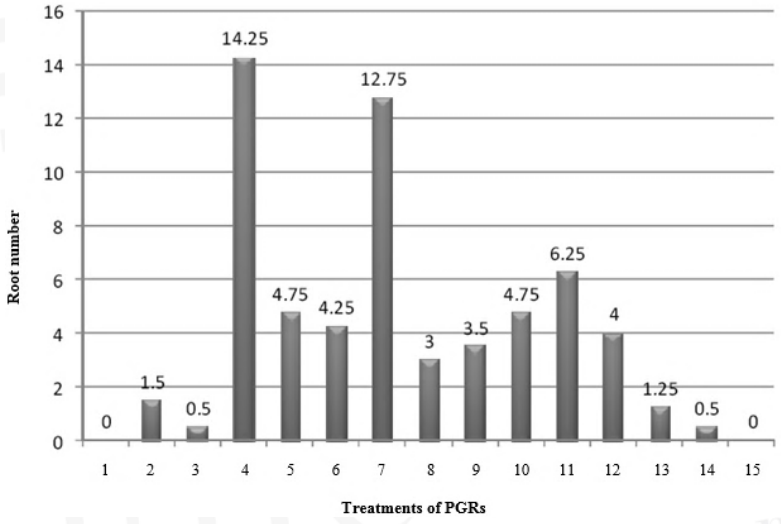
شکل ۱- اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی تعداد شاخه در آگلونما.

بالاترین طول شاخه (۷/۷۵ سانتی‌متر در ریزنمونه) در تیمار ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۳ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد (شکل ۲). پایین‌ترین طول شاخه (۰/۲۵ سانتی‌متر در ریزنمونه) وقتی القا شد که جوانه‌های رأسی روی محیط کشت MS حاوی ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA همچنین محیط بدون TDZ کشت گردیدند (شکل ۲).



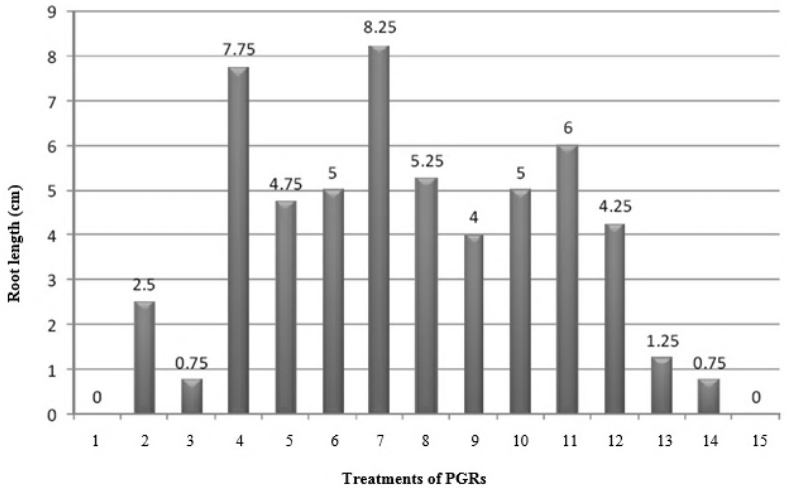
شکل ۲- اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی طول شاخه در آگلونما.

ریشه‌زایی در محیط فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محیط حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۷ میلی‌گرم در لیتر 2-iP مشاهده نشد. در میان ۳ نوع سیتوکینین مورد بررسی، BA برای القای ریشه نسبت به TDZ و 2-iP مؤثرتر بود (شکل ۳). حداقل تعداد ریشه روی محیط‌های غنی‌شده با TDZ و 2-iP مشاهده شد. محیط غنی‌شده با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۳ میلی‌گرم در لیتر BA برای تولید ریشه بهترین بود. تعداد ریشه در محیط‌های حاوی ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۷ میلی‌گرم در لیتر 2-iP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ (۰/۵ ریشه در ریزنمونه) کمینه بود (شکل ۳).



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی تعداد ریشه در آگلونما.

ریشه‌زایی در محیط MS فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و محیط حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۷ میلی‌گرم در لیتر 2-iP مشاهده نشد. القای ریشه و طول ریشه (۰/۷۵ سانتی‌متر) روی محیط‌های غنی‌شده با ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۷ میلی‌گرم در لیتر 2-iP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱ میلی گرم در لیتر TDZ ضعیف بودند (شکل ۴). بیشترین طول ریشه (۸/۲۵ سانتی‌متر در ریزنمونه) در ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد.



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی روی طول ریشه در آگلونما.

نتایج سازگاری نشان داد که ۹۵ درصد گیاهچه‌ها بقا داشتند و در شرایط گلخانه به‌خوبی رشد کردند و از نظر ریخت‌شناسی شبیه به گیاهان مادری بودند. یک مخلوط از خاک سبک با زهکشی خوب برای سازگاری این گیاه مناسب است.

بحث

اندام‌زایی مستقیم شاخه، روش اصلی ریزازدیادی برای گیاهان زینتی خانواده‌ی آراسه می‌باشد (Chen and Henny, 2008). اندام‌زایی غیرمستقیم طی مرحله‌ی تشکیل کالوس، تنوع سوماکلونال را در آگلونما و سایر اعضای خانواده‌ی آراسه به دنبال دارد (Henny and Chen, 2003; Shen et al., 2007). ترکیب NAA و BA برای تکثیر شاخه در بسیاری از مطالعات مربوط به ریزازدیادی نشان داده شده است. مطالعه‌ی Fang و همکاران (۲۰۱۳) روی آگلونما نشان داد که طویل‌ترین شاخساره‌ها روی محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد. برتری BA نسبت به سایر سیتوکینین‌ها مانند KIN، 2-iP و TDZ در تحریک طویل‌شدن شاخه در آگلونما و سایر جنس‌های آراسه گزارش شده است (Dewir et al., 2006; Fang et al., 2013). تیدیازورون (TDZ) یک ترکیب شبه‌سیتوکینینی است که می‌تواند تکثیر شاخه را تحریک کند (Mariani et al., 2011). برخی محققان در کشت بافت آگلونما از ترکیب TDZ و دی‌کامبا استفاده کردند (Yeh et al., 2007). Mariani و همکاران (۲۰۱۱) غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ را برای ریزازدیادی آگلونما به‌کار بردند. این یافته‌ها پیشنهاد می‌کند که غلظت پایین TDZ برای کشت بافت گیاهان این خانواده مناسب است (Mariani et al., 2011). دلیل احتمالی برای این یافته، توانایی بیشتر بافت‌های گیاه برای جذب و استفاده از این هورمون است. ترکیب NAA و BA برای القای ریشه در بسیاری از مطالعات ریزازدیادی نشان داده شده است (Jain and Ochatt, 2010). مطالعه‌ی Fang و همکاران (۲۰۱۳) روی آگلونما نشان داد که بیش از ۸۰ درصد از شاخه‌ها در شرایط برون‌شیشه‌ای با کاربرد ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA ریشه‌دار شدند. نتایج مشابهی توسط برخی محققان دیگر گزارش شد (Jahan et al., 2009). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تکثیر شاخه و القای ریشه در آگلونما روی محیط حاوی ترکیب مشابه از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی با موفقیت انجام شد.

منابع

Chen, J. and Henny, R.J. 2008. Role of micropropagation in the development of ornamental foliage plant industry. In: Teixeira da Silva J.A. (ed.) Floriculture, Ornamental and Plant Biotechnology, vol. V. Global Science Books, London, pp. 206–218.

Chen, W.L. and Yeh, D.M. 2007. Elimination of *in vitro* contamination, shoot multiplication, and *ex vitro* rooting of *Aglaonema*. HortScience. 42: 629–632.

Dewir, Y., Chakrabarty, D., Hahn, E. and Paek, K. 2006. A simple method for mass propagation of *Spathiphyllum cannifolium* using an airlift bioreactor. In Vitro Cell Dev.-Biol. Plant. 42: 291–297.

Fang, J.Y., Hsul, Y.R. and Chen, F.C. 2013. Development of an efficient micropropagation procedure for *Aglaonema* 'Lady Valentine' through adventitious shoot induction and proliferation. Plant Biotechnology. 30: 423–431.

Henny, R.J. and Chen, J. 2003. Cultivar development of ornamental foliage plants. Plant Breeding Review. 23: 245–290.

Jahan, M., Islam, M., Khan, R., Mamun, A., Ahmed, G. and Hakim, L. 2009. *In vitro* clonal propagation of Anthurium (*Anthurium andraeanum* L.) using callus culture. Plant Tissue Culture and Biotechnology. 19: 61–69.

Jain, S.M. and Ochatt, S.J. 2010. Protocols for *in vitro* propagation of ornamental plants. Springer Protocols, Humana Press.

Mariani, T.S., Fitriani, A., Teixeira da Silva, J.A., Wicaksono, A. and Chia, T.F. 2011. Micropropagation of *Aglaonema* using axillary shoot explants. International Journal of Basic Applied Science. 11: 46–53.

Murashige, T. and Skoog, T. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plant. 15: 473–497.

Shen, X., Chen, J. and Kane, M. 2007. Indirect shoot organogenesis from leaves of *Dieffenbachia* cv. Camouflage. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 89: 83–90.

Yeh, D.M., Yang, W., Chang, F., Chung, M., Chen, W. and Huang, H. 2007. Breeding and micropropagation of *Aglaonema*. Acta Horticulture. 755: 93–98.

Micropropagation of *Aglaonema sp.* by BA, 2-iP, TDZ and NAA

Behzad Kaviani[1*], Seddigheh Rouhi[1], Naser Negahdar[1, 2], Shima Seydi[1, 2] and Mohsen Mohammadi[1, 2]

[1]Associate Professor and Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran

[2]Hyrcan Agricultural Sciences and Biotechnology Research Institute, Amol, Iran

[*]Corresponding author: b.kaviani@yahoo.com

Abstract

This study was done on *in vitro* multiplication of an ornamental plant, *Aglaonema* sp. Shoot tip explant cultures were established on Murashige and Skoog (MS) medium. BA, 2-iP, TDZ and NAA were studied for their effect on miropropagation of *Aglaonema* sp. BA and NAA treatments as 3.00 mg l^{-1} + 0.2 mg l^{-1} recorded the highest shoot proliferation rate. Maximum root initiation and development was obtained on medium supplemented with 3.00 mg l^{-1} BA + 0.20 mg l^{-1} NAA. The combination of 3.50 mg l^{-1} BA + 0.20 mg l^{-1} NAA was found to be the most suitable growth regulators for obtaining the highest root length. The plantlets were transferred to pots and grown in the greenhouse with a success rate of 95%.

***Keywords*: Araceae, *in vitro* micropropagation, ornamental plants, tissue culture**