بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاه لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum*)

لقمان عزیزپور[۱*]، حسین حسینی مقدم[۲]، مهدی زارعی[۳] و یاسر حسینی[۴]

[۱*] دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه گنبد کاووس

[۲،۳] استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه گنبد کاووس

[۴] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد گیاه‌پزشکی، گنبدکاووس

*نویسنده مسئول: Looghman.azizpoor@yahoo.com

چکیده

گیاه لیزیانتوس (*Eustoma grandiflorum*)، گیاه گلداری از خانواده (Gentianaceae) است. که به لحاظ تنوع رنگ گل، از بازارپسندی مناسبی برخوردار است. این گیاه یک‌ساله، متعلق به نواحی معتدل و متحمل به گرما می‌باشد. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر پرآوری این گیاه بود. ضمناً این گیاه دگرگشن است و بذرهای تولیدی گیاه قدرت جوانه‌زنی خوبی ندارد و گیاهان یکنواختی تولید نمی‌کنند. لذا تولید این گیاه زینتی باارزش از طریق کشت‌بافت می‌تواند بسیار حائز اهمیت باشد. این آزمایش در قالب یک طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی کشت شد. در این تحقیق، ریز نمونه‌های جوانه‌های جانبی و انتهایی ابتدا با مایع ظرف‌شویی (دی‌ترژن) و آب شهری شسته شده و سپس با کلرید جیوه ۰/۰۴ ٪ ضدعفونی شد. ریزنمونه‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) به‌همراه ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رشد ایندول استیک اسید (IAA) و کاینتین (Kin) با غلظت‌های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر کشت شدند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان شاخه‌زایی و بیشترین تعداد برگ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin تولید شد. ترکیب هورمونی kin و IAA به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین طول شاخه را تولید نمود.

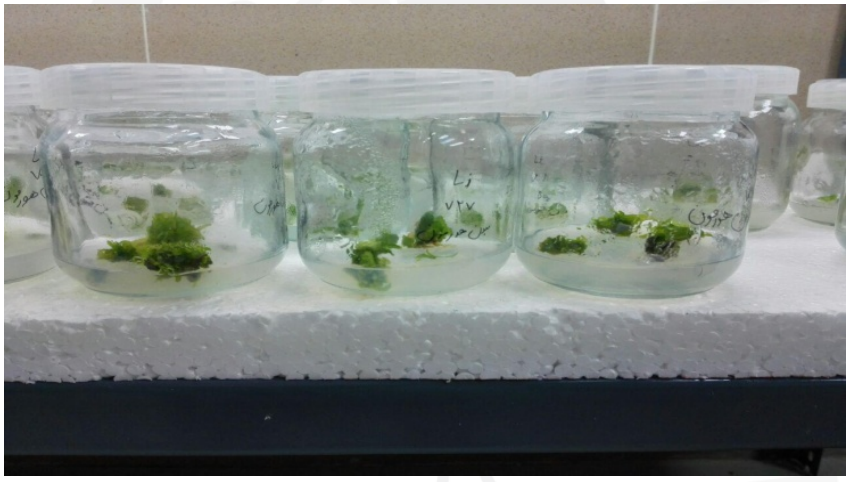
***واژه‌های کلیدی:* تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی ، جوانه‌های جانبی و انتهایی، کشت بافت ، پرآوری، Kin**

مقدمه

گل شاخه‌بریده لیزیانتوس جزء ده گل شاخه‌بریده مهم دنیا محسوب می‌شود و طی ۱۰سال گذشته بازار فروش آن در جهان بیش از ۵۰٪ افزایش داشته است (VBN, 2007). این گیاه بومی ایالات متحده جنوبی، نبراسکا، لویزیانا و مکزیک است و به‌عنوان گل شاخه‌بریده و گلدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Paek and Hahn, 2000). روش معمول تکثیر لیزیانتوس با بذر است و با توجه به این‌که بذر آن بسیار ریز است، تولید با این روش در سطح وسیع، با ناهمسانی ژنتیکی و احتمال آلودگی گیاهچه همراه است (Furukawa et al., 1990). روش‌های پیشرفته‌ای در اختیار تولیدکنندگان گیاهان زینتی و دارویی قرار دارد که می‌تواند نیاز بازارهای جهانی را در قرن آینده فراهم کند (Kaviani and Ghaffari, 2015). ریزازدیادی ابزاری مؤثر در تکثیر گیاهان زینتی در مقیاس وسیع است. برای توسعه تجارت گل‌های شاخه‌بریده در سطح جهانی، روش‌های جدیدی به کار گرفته می‌شود (Rout and Jain, 2004). بنابراین استفاده از روش‌های ریزازدیادی یکی از راه‌های دستیابی به تعداد زیادی نشاء لیزیانتوس با ساختار ژنتیکی یکسان است و کاهش هزینه‌های تولید می‌باشد و امکان تولید سریع و مداوم را به‌همراه دارد (Semeniuk and Griesbach,1987). به دلیل شباهت زیاد به گل رز و تنوع رنگ (آبی، سفید، ارغوانی، صورتی و بنفش) و سازگاری بالای آن و همچنین ماندگاری بالای آن به‌عنوان گل شاخه‌بریده در بازار گل ایران محبوب شده است. استفاده‌های تزئیناتی به‌صورت پرورش گلدانی و استفاده‌های کاربردی آن در فضای سبز، محیط خانگی و ادارات بر اهمیت آن افزوده است. تولید آن موجب اشتغال‌زایی مستقیم و غیر مستقیم شده، اهمیت بسزایی در صنعت گل‌کاری داشته، و بنابراین می‌توان با تولید انبوه و کم‌هزینه و صادرات به بازارهای منطقه‌ای و جهانی برای کشور ارزآوری ایجاد کرد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در آزمایشگاه کشت‌بافت دانشکده کشاورزی دانشگاه گنبدکاووس انجام گرفت. گیاه لیزیانتوس از گلخانه‌های شهر گنبدکاووس تهیه شد. از جوانه‌های جانبی و جوانه‌های انتهایی به‌عنوان ریزنمونه در کشت استفاده شد. ریز نمونه‌ها به‌منظور کاهش آلودگی با مایع ظرفشویی و آب شهری با دقت شسته شدند. پس از طی این مرحله با کلرید جیوه ۰/۰۴٪ به مدت ۷ دقیقه ضدعفونی انجام شد. سپس با آب مقطر استریل ۳ بار شستشو داده شد. تمام مراحل ضدعفونی در زیر هود لامینار انجام شد. پس از اعمال تیمارها، به‌منظور حذف کامل ماده ضدعفونی کننده، ریز نمونه‌ها سه مرتبه در آب مقطر استریل شستشو داده شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) به همراه هورمون‌های IAA و Kin هر کدام به میزان ۰، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و تلفیقی از آن دو هورمون کشت شدند. این محیط‌ها هم‌چنین دارای ۷ گرم آگار و ۳ درصد ساکاروز بودند. اسیدیته (PH) محیط بر روی ۵/۸ تنظیم شد. محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ بار به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. محیط‌های کشت حاوی ریز نمونه در اتاق رشد تحت فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰-۷۵ درصد و جریان تراکم فتون فتوسنتزی ۵۰ میکرومول بر مترمربع بر ثانیه نگهداری شدند. پس از ۳۶ روز صفات شاخساره از جمله تعداد شاخه, طول شاخه، تعداد برگ اندازه‌گیری شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در سطح احتمال ۰/۰۱ و ۰/۰۵انجام شد. رسم نمودار با برنامه Excel انجام گرفت. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. هر تیمار شامل ۵ بطری کاشت و در هر بطری ۳ ریزنمونه کشت گردید.



شکل ۱- ریزنمونه‌های کشت شده در اتاقک رشد

نتایج و بحث

نمونه‌های مورد نظر بعد از ضدعفونی به محیط‌کشت (MS) با تیمارهای مختلف منتقل گردید و بعد از گذشت ۳۶ روز تعداد نمونه‌های استقرار یافته, شاخه‌زایی, شمارش و نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفت مورد مطالعه بر اساس طرح فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در جدول (۱) آورده شده است. بر اساس نتایج این جدول در محیط کشت MS صفات شاخه‌زایی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد و ۵ درصد وجود داشت که نشان دهنده تغییر ارزش صفات مورد مطالعه بود.

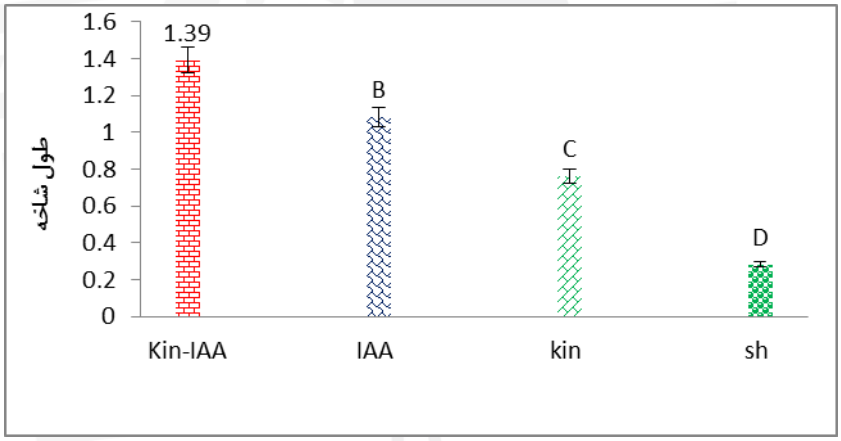
ضریب تغییرات براساس ماهیت اعداد یک معیار استاندارد بوده و میزان دقت آزمایش و تکرارپذیری ارزش صفات را نشان می‌دهد. کمی این معیار بیانگر دقت بالا در اجرای آزمایش و نیز تأثیر کم محیط برروی صفات می‌باشد. از میان معیارهای مورد مطالعه صفات,تعداد برگ دارای کمترین ضریب تغییرات به میزان ۲۱/۴۶ می‌باشد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	منابع تغییرات		
		طول ساقه	تعداد ساقه	تعداد برگ
هورمون	۳	۱/۳۵**	۰/۲۳*	۰/۵۷**
خطا	۲۰	۰/۰۶	۰/۰۲	۰/۰۴
ضریب تغییرات		۲۸/۸	۲۲/۱۱	۲۱/۴۶

نتایج حاصل از تجزیه واریانس دادها نشان داد اثر هورمون بر طول ساقه در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. نمودار حاصل مقایسه میانگین دادها نشان داد، بیشترین طول شاخه در محیط کشت پایه حاوی ترکیب هورمون Kin-IAA با میانگین ۱/۳۹ حاصل شد که با دیگر تیمارها اختلاف معنی‌داری داشت و مابقی تیمارهای هورمونی کمترین طول شاخساره را ایجاد کردند.

اکسین و سایتوکنین باعث شکل‌زایی و اندام‌زایی گیاه می‌شوند و این رویدادها تحت تأثیر غلظت‌های مختلفی صورت می‌گیرد(Masidu and Hayat, 2007) . کاویانی و غفاری‌اسیزاد (۱۳۹۲) با پژوهش‌هایی بر روی گیاه لیزیانتوس، بیشترین طول شاخه را در محیط کشت پایه حاوی هورمون Kin بدون (NAA) حاصل کردند. نتایج حاصل از مطالعات پژوهشگران تا حدودی موافق با پژوهش حاضر بود.

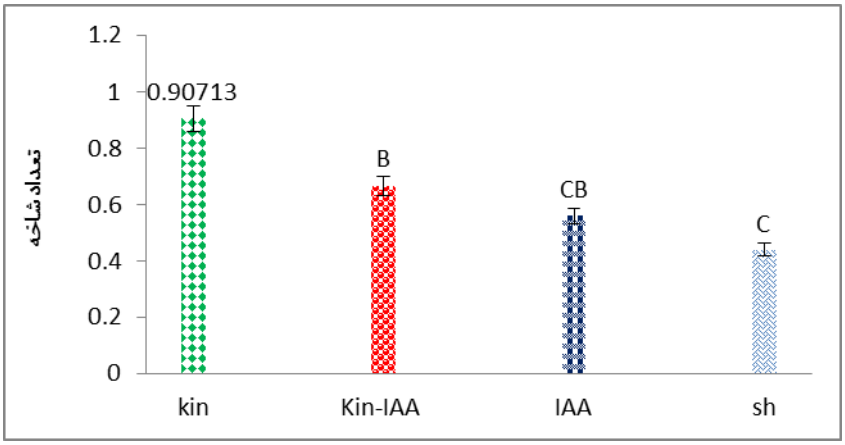


نمودار ۱- تأثیر نوع هورمون بر روی طول شاخه گیاهچه لیزیانتوس

تعداد شاخه

نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس (۱) نشان داد که اثر تیمارهای هورمونی بر تعداد شاخه در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. نمودار (۲) حاصل از مقایسه میانگین دادها نشان داد، بیشترین تعداد شاخه در محیط‌کشت پایه حاوی هورمون Kin با میانگین ۰/۹ به‌دست آمد. و کمترین تعداد برگ مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۲۹ به دست آمد.

سیتوکنین‌ها گروهی از هورمون‌ها هستند که محرک رشد بوده، اثر تحریکی آن‌ها بیشتر در ارتباط با تقسیم سلولی است (Fahimi, 2015). نتایج به‌دست آمده از پژوهش‌های کاویانی و غفاری‌اسیزاد (۲۰۱۵) بر روی ریزازدیادی گیاه لیزیانتوس، بیشترین تعداد شاخه را در محیط‌کشت پایه حاوی هورمون Kin فاقد هورمون (NAA) به‌دست آوردند. نتایج حاصله با بررسی‌های حاضر مطابقت داشت.

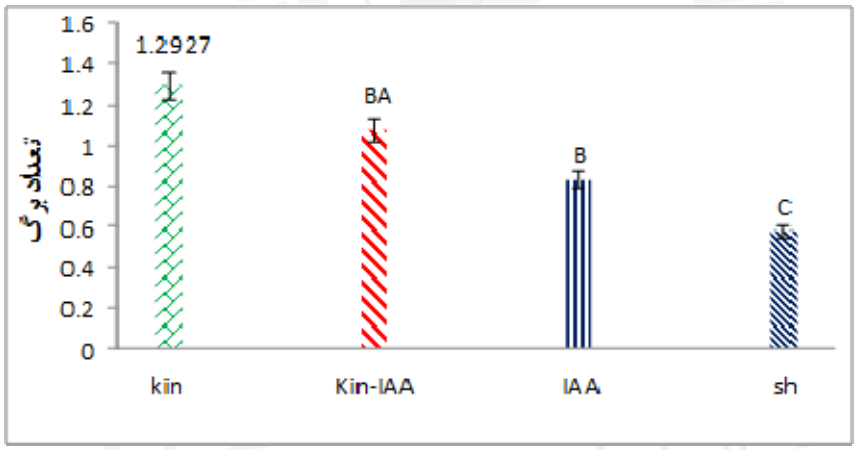


نمودار ۲- تأثیر نوع هورمون بر روی تعداد شاخه

تعداد برگ

نتایج حاصل از تجزیه واریانس جدول (۱) نشان داد اثر تیمارهای هورمونی بر روی تعداد برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. با توجه به نمودار (۳) بیشترین تعداد برگ مربوط به هورمون Kin با میانگین ۱/۲۹ نسبت به سایر هورمون‌های دیگر است و کمترین تعداد آن مربوط به تیمار شاهد با میانگین ۰/۵۷در مقایسه با تیمارهای هورمونی دیگر قرار دارد.

جعفری و همکاران (۱۳۹۴) طی تحقیقاتی بر روی گیاه لیزیانتوس، بیشترین تعداد برگ در هر نوشاخه در تیمار هورمونی BAP حاصل کردند. سایتوکنین‌ها در رشد اندام هوایی گیاهان بیشترین تأثیرگذاری را دارند و سبب رشد و نمو گیاه می‌شوند (Fahimi, 2015). نتایج به دست آمده از پژوهش و بررسی‌های انجام گرفته تا حدودی موافق با مطالعه حاضر بود.



نمودار ۳- تأثیر نوع هورمون بر روی تعداد برگ

منابع

Furukawa H, Matsubara C. and shigematsa, N. 1990. Shoot regeneration from the rootsof prairie gentian (*Eustoma grandiflorum* (Griseb.) Schinners). Plant Tissue culture Letters, 7 (1):11-13.

Fahimi, H. 2015. Plant Growth Regulators, publication of Tehran, 3 (5): 173.

Paek K.Y. and Hahn, E.J. 2000. Cytoknins, auxins and activated charcoal affect organogenesis and anatomical characteristics of shoot-tip culthers of lisianthus. In vitro cell. Dev. Biol-Plant, 36:128-132.

Rout G.R and Jain, S.M. 2004. Micropropagation of ornamental Plant, 4(2):3-28.

Kulpa D. and. Nowak, N. 2011. in vitro flowering of petunia-atkinsiana D. Don. Folia horticulture 23/2: 125 -12.

Kaviani B. and Ghaffari S. 2015. The effect of different concentrations of NAA and kinetin on ornamental plant micropropagation Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology), Volume 28, Issue 5(SPECIAL).

Jafree R, Moeenee A, Kreemzadeh gh. And mowahedi, Z. (2015). Evaluation of the effects of BAP, Kin and the effects of IAA and GA3 on lisianthus on rooting plant in vitro conditions. Breeding crop plants, 3 (1): 57-67.

Masidu Alam S. and Hayat B. 2007. Effect of 28- homobrassinolide traetment on nickel in Brassica juncea. Photosynthetica 45(1):139-142

Semeniuk P. and Griesbach, R.J. 1987. In vitro propagation of prair gentian. Plant cell, Tissue and organ Culture 8:249-253.

Study the Effects of Growth Regulators on In Vitro Propagation of Lisianthus Plant

Loghman Azizpour[1]*,Hossein Hosseini Moghaddam[2],Mehdi zarei[2],Yaser Hosseini[3]
*[1]MSc. Student of Agricultural Biotechnology.GonbadKavous University, GonbadKavous
[2]Assistant Professor of plant production Dept.,GonbadKavous University, GonbadKavous
[3]Educated of MSc. degree in plant protection, GonbadKavous
Corresponding Author: looghman.azizpoor@yahoo.com

Abstract

Lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), is a flowering plant from family (Gentianaceae). Because of the Various flower colors the plant such as: blue, white, purple, pink and purple has become an importance flower in the markets of cut flowers, potted and garden flowers. This annual plants, belong to regions of moderate and tolerant to heat zone. The aim of this study was to evaluate the effect of plant growth regulators on the proliferation of the plant. To keep the genetically characteristics of the plants vegetative propagation through tissue culture can be very important. This experiment was designed as factorial in the form of completely random plan with 5 replication and 3 sample in each replication. Explants cultured on Murashige and Skoog medium (MS) with a combination of growth regulators IAA and Kin with different concentrations of 0, 0/5 and 1 mg per liter. The results showed that the highest number of leaves and shoots resulted in 0/5 mg/l of kinetin. the maximum shoot length obtained with the combination of both hormones (IAA and kin) with concentration of 1 mg per liter.

Keywords: **plant growth regulators, lateral and terminal buds, tissue culture, proliferation, Kin**

IrHC 2017
Tehran - Iran