اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازیادی گیاه کالادیوم (*Caladium bicolor*)

حسن عابدینی آبکسری[1*] و بهزاد کاویانی[2]

[1] دانشجوی دکتری باغبانی، واحد علوم و تحقیقات دانشگاه آزاد اسلامی، تهران. ایران

[2] دانشیار گروه علوم باغبانی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران

[*]نویسنده مسئول: hassan.abedini@yahoo.com

چکیده

کالادیوم (*Caladium bicolor*) از گروهی از گیاهان می‌باشد که، در خانواده گل شیپوریان (Araceae) قرار دارد. کشت درون شیشه‌ای شیوه‌ای از تکثیر می‌باشد که امکان تکثیر انبوه و یکسان گیاهان را فراهم می‌سازد. در این راستا در این پژوهش از ۲۵ غلظت مختلف بنزیل آدنین (BA) و نفتالن استیک اسید (NAA) به‌منظور بررسی ریشه‌زایی و تولید شاخساره‌ی ریز نمونه‌های برگی گیاه کالادیوم (*Caladium bicolor*) در محیط کشت MS استفاده شد. تیمارهای آزمایشی در تمامی سطوح نسبت به شاهد در تولید کالوس و تولید ریشه و شاخساره مؤثرتر بودند. بیشترین تعداد شاخه و ریشه به ترتیب در محیط‌های کشت حاوی ۱ $mg\ l^{-1}$ NAA و ۳ $mg\ l^{-1}$ BA و ۰/۵ $mg\ l^{-1}$ NAA مشاهده شد. باززایی و رشد گیاهان در محیط کشت گلخانه (مرحله انتقال) موفقیت‌آمیز بود.

کلمات کلیدی: *تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، کشت بافت، گیاه زینتی*

مقدمه

در ازدیاد درون شیشه‌ای امکان تولید انبوه گیاهان یکنواخت وجود دارد. ریزازدیادی به‌طور گسترده‌ای برای تسریع تولید بسیاری از گونه‌های گیاهی و ارقام گیاهان زینتی اعمال می‌شود. در بسیاری از مطالعات ریزازدیادی تعداد بالایی از تیمارهای تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (PGRS) و مقدار مصرفی آن‌ها در تلاش برای پیدا کردن بهترین راه برای به دست آوردن یک پروتکل مناسب مورد بررسی قرار گرفت. ریزازدیادی یک ابزار قدرتمند برای ازدیاد درون شیشه‌ای در کالادیوم است. موفقیت ریزازدیادی بستگی به عوامل مختلف مانند ژنوتیپ، محیط کشت، تنظیم‌کننده رشد گیاهی و نوع ریزنمونه دارد. آزمایش حاضر با هدف اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی با غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین (BA) نفتالن استیک اسید (NAA) بر ریزازدیادی گیاه کالادیوم (*Caladium bicolor*) و عملکرد ریشه‌زایی و شاخه‌زایی این گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

برگ‌های گیاهان کالادیوم به‌عنوان ریز نمونه استفاده شد. ریز نمونه‌ها با ۸٪ سدیم هیپوکلریت برای ۱۰ دقیقه و ۷۰٪ اتانول برای یک دقیقه ضدعفونی شدند و بعد از آن ۳ بار با آب مقطر استریل شدند. ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS قرار داده شدند (مقدار متوسط ۳٪ ساکارز و بخش جامد ۷۰٪ آگار). NAA در غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۳ میلی‌گرم و BA در غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳، ۴ میلی‌گرم تهیه شدند و به‌صورت مجزا و یا ترکیبی به محیط‌های کشت اضافه شدند. در این مطالعه طول ریشه، تعداد ریشه، طول شاخه و تعداد شاخساره دو ماه بعد از انتقال ریزنمونه‌ها به محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Spss و نتایج مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح آماری ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

جدول ۱. تجزیه و تحلیل واریانس اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA در طول ساقه، تعداد ساقه‌ها، طول ریشه و تعداد ریشه *Caladium bicolor* (Aiton) Vent.

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ساقه	تعداد ریشه	طول ریشه	تعداد ساقه
BA	۴	۶/۹۱۵**	۰/۹۰۴^{ns}	۲/۲۶۸**	۱/۷۲۲**
NAA	۴	۷/۲۰۵**	۱۱/۸۲**	۱۲/۹۷**	۱۸/۰۳**
BA × NAA	۱۶	۱/۶۲*	۱/۲۰۷*	۱/۲۸۲*	۱/۲۷۲**
اشتباه آزمایشی	۵۰	۰/۷۱۹	۰/۵۶۳	۰/۵۷۶	۰/۴۰۶
ضریب تغییرات (٪)	---	۲۵/۰۴	۲۹/۵۹	۴۲/۲۹	۱۵/۰۳

**، *، ns به ترتیب، معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و غیر معنی‌دار

اثر اصلی BA (P≤ ۰/۰۱) ، NAA (P≤ ۰/۰۱) و اثر متقابل دو عامل (P≤ ۰/۰۵) BA + NAA دارای اختلافی معنی‌دار بر روی طول شاخساره بود (جدول ۱) بالاترین طول شاخساره مربوط به تیمار NAA ۱ mg l^{-1} + (BA) ۳ mg l^{-1} با میانگین ۵/۸۳ سانتی‌متر، تیمار NAA ۱ mg l^{-1} بدون کاربرد BA به ترتیب با میانگین ۱/۷۰ و ۱/۸۶ سانتی‌متر کمترین اثر را روی طول شاخساره داشت (جدول ۲). اثر اصلی و متقابل دو عامل BA و NAA اختلافی معنی‌دار روی تعداد شاخساره‌ها داشت (P≤ ۰/۰۱) (جدول ۱). کمترین تعداد شاخساره با تعداد ۲/۳۶ و ۲/۸۳ عدد به ترتیب مربوط به گیاهان تیمار شده با BA ۲ mg l^{-1} + NAA ۲ mg l^{-1} و BA ۳ mg l^{-1} بدون کاربرد NAA بود (جدول ۲). تیمار BA ۱ mg l^{-1} + NAA ۰/۵ با میانگین ۶/۴۳ عدد بیشترین اثر را روی تعداد شاخساره‌ها داشت (جدول ۲). بیشترین طول ریشه با میانگین ۵/۱۳ سانتی‌متر در محیط کشت MS تیمار شده با BAB ۳ mg l^{-1} + NAA ۰/۵ mg l^{-1} مشاهده شد (جدول ۲). ریزنمونه‌های تیمار شده با NAA ۳ mg l^{-1} بدون کاربرد BA با میانگین ۰/۷ میلی‌متر کمترین طول ریشه را داشتند (جدول ۲). اختلافی معنی‌دار روی طول ریشه ریزنمونه‌های رشد یافته با BA، NAA و NAA + BAP (P≤ ۰/۰۱) ، (P≤ ۰/۰۱) و (P≤ ۰/۰۱) مشاهده شد. کاربرد NAA اثر معنی‌داری روی تعداد ریشه داشت (P≤ ۰/۰۱) (جدول ۱). بیشترین تعداد ریشه در ریزنمونه‌های در محیط‌های کشت حاوی NAA مشاهده شد (جدول ۲). بیشترین تعداد ریشه (۵/۵۶ عدد) مربوط به ریزنمونه‌ها با BA mg l^{-1} ۳ + NAA ۰/۵ mg l^{-1} بود. تعداد ریشه با میانگین ۱/۲۳ و ۱/۳۳ عدد به ترتیب با تیمارهای BA ۲ mg l^{-1} و ۴ بدون کاربرد NAA کاهش یافت (جدول ۲).

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف NAA و BAP در طول ساقه، تعداد ساقه، طول ریشه و تعداد ریشه *Caladium bicolor* (Aiton) Vent.

تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	تعداد ساقه	طول ساقه (cm)	های رشدتنظیم کننده (mg l^{-1})
۲/۲۳$^{c-h}$	۱/۰۶^{efg}	۳/۵۳^{fg}	۲/۵۳ $^{d-h}$	BA 0.00 + NAA 0.00
۲/۵۰$^{c-g}$	۱/۷۰$^{d-g}$	۴/۸۶^{bcd}	۳/۲۰$^{c-g}$	BA 0.00 + NAA 0.5
۲/۹۳$^{b-e}$	۱/۰۶^{efg}	۴/۴۳^{def}	۱/۸۶^{gh}	BA 0.00 + NAA 1.00
۲/۱۳$^{d-h}$	۱/۳۳^{efg}	۳/۴۶^{fg}	۱/۷۰^{h}	BA 0.00 + NAA 2.00
۲/۵۰$^{c-g}$	۰/۷۰^{g}	۳/۶۰^{efg}	۲/۲۳^{fgh}	BA 0.00 + NAA 3.00
۱/۴۳^{fgh}	۰/۸۳^{fg}	۳/۶۶^{efg}	۳/۲۳$^{c-g}$	BA 1.00 + NAA 0.00
۳/۴۳^{bc}	۲/۷۶^{bcd}	۶/۴۳^{a}	۵/۱۶^{ab}	BA 1.00 + NAA 0.5
۲/۴۰$^{c-h}$	۲/۹۳^{bcd}	۵/۵۳^{abc}	۳/۵۰$^{c-f}$	BA 1.00 + NAA 1.00
۱/۵۶^{fgh}	۱/۴۰^{efg}	۴/۶۳^{cde}	۳/۸۳^{bcd}	BA 1.00 + NAA 2.00
۱/۸۶$^{e-h}$	۱/۰۶^{efg}	۳/۴۶^{fg}	۳/۲۳$^{c-g}$	BA 1.00 + NAA 3.00
۱/۳۳^{gh}	۰/۹۶^{efg}	۳/۶۰^{efg}	۲/۶۳$^{d-h}$	BA 2.00 + NAA 0.00
۴/۰۰^{b}	۳/۰۰^{bc}	۵/۷۶^{ab}	۴/۵۰^{abc}	BA 2.00 + NAA 0.5
۳/۲۳^{bcd}	۱/۹۳$^{c-g}$	۵/۶۰^{abc}	۵/۳۶^{a}	BA 2.00 + NAA 1.00
۲/۸۳$^{b-e}$	۱/۷۶$^{c-g}$	۲/۳۶^{h}	۳/۶۶$^{b-e}$	BA 2.00 + NAA 2.00
۲/۳۰$^{c-h}$	۰/۹۰^{efg}	۳/۳۶^{gh}	۲/۸۰$^{d-h}$	BA 2.00 + NAA 3.00
۱/۴۰^{gh}	۱/۰۷^{efg}	۲/۸۳^{gh}	۳/۳۰$^{c-f}$	BA 3.00 + NAA 0.00
۵/۵۶^{a}	۵/۱۳^{a}	۶/۱۳^{a}	۴/۵۳^{abc}	BA 3.00 + NAA 0.5
۲/۳۰$^{c-h}$	۲/۱۰$^{c-f}$	۳/۵۳^{fg}	۵/۸۳^{a}	BA 3.00 + NAA 1.00
۲/۳۶$^{c-h}$	۰/۸۶^{efg}	۳/۴۶^{fg}	۳/۶۳$^{b-e}$	BA 3.00 + NAA 2.00
۱/۸۳$^{e-h}$	۱/۸۰$^{c-g}$	۳/۵۳^{fg}	۲/۴۳$^{e-h}$	BA 3.00 + NAA 3.00
۱/۲۳^{h}	۰/۹۳^{efg}	۳/۴۳^{fg}	۳/۵۶$^{c-f}$	BA 4.00 + NAA 0.00
۴/۰۰^{b}	۳/۹۳^{ab}	۵/۷۰^{ab}	۳/۶۳$^{b-e}$	BA 4.00 + NAA 0.5
۳/۱۳^{bcd}	۲/۱۳^{cde}	۶/۳۰^{a}	۳/۹۰^{bcd}	BA 4.00 + NAA 1.00
۲/۶۳$^{c-f}$	۱/۶۶$^{d-g}$	۳/۶۶^{efg}	۱/۹۰^{gh}	BA 4.00 + NAA 2.00
۲/۲۳$^{c-h}$	۱/۷۰$^{d-g}$	۳/۲۰^{gh}	۱/۹۵^{gh}	BA 4.00 + NAA 3.00

*در هر ستون داده‌هایی که دارای یک حرف مشترک هستند، طبق آزمون LSD در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار نمی‌باشند.

ریزنمونه‌های برگی رشد یافته در محیط کشت MS حاوی ۴ mg l^{-1} BA با ۰/۵ mg l^{-1} NAA بیشترین مقدار کالوس را تولید کردند. تولید کالوس تحت تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (PGRS) توسط پژوهشگران زیادی گزارش شد. Jain and Ochatt (2010) نشان دادند که، از میان تمامی انواع اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها که به‌صورت منفرد و یا ترکیبی برای القای کالوس‌زایی مورد استفاده قرار می‌گیرند، ۲، ۴، دی در سطح بالاتری قرار دارد (Kaviani *et al*, 2015). ۲، ۴، دی برای القای کالوس‌زایی می‌باشد، اما IAA و NAA برای ریشه‌زایی مورد استفاده قرار می‌گیرد (George *et al*. 2005). در ارتباط با کاربرد ترکیبی سیتوکنین همراه با اکسین‌ها در القای کالوس‌زایی، بیشترین کاربرد مرتبط با کاربرد ۲، ۴، دی همراه با BA می‌باشد (Kaviani *et al*, 2015). Thepsithar *et al*. (2010) با بررسی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (BA، ۲، ۴، دی و NAA) در ریزازدیادی کالادیوم (*Caladium bicolor*) نشان دادند که، اکثر تیمارهای ترکیبی حاصل از انواع مختلف اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها در کالوس‌زایی این گیاه مؤثر بودند. محیط کشت حاوی، BA=۱۷/۷۶ µm l^{-1} با NAA =۲/۶۹ µm l^{-1} بیشترین تأثیر را در فرآیند کالوس‌زایی کالادیوم داشت. در ارتباط با تولید شاخساره کاربرد BA به‌تنهایی اثر مطلوبی نداشت، ولی بیشترین تولید شاخساره در محیط کشت حاوی BA و NAA مشاهده شد. غلظت‌های زیادی از BA برای

تولید شاخساره گزارش شده است. Chan *et al*. (2003) بیان نمودند که، بیشترین تولید شاخساره برای ریزنمونه های کالادیوم در محیط کشت MS حاوی BA $mg\ l^{-1}$ ۲ مشاهده شده است. Ali *et al*. (2007) طی تحقیقی عنوان نمودند که با افزودن NAA $mg\ l^{-1}$ ۰/۲۵ به همراه BA $mg\ l^{-1}$ ۲ به محیط کشت به‌طور قابل توجهی تولید شاخساره در ریزنمونه‌های کالادیوم افزایش یافت (۳۲ شاخساره) که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. بسیاری از پژوهشگران افزایش شاخه زایی را در کالادیوم با ترکیبی از BA با NAA گزارش کردند. (Ali *et al*., 2007). پژوهش Thepsithar *et al*. (2010) در ریزازدیادی گیاه کالادیوم نشان داد که، بیشترین میزان شاخه‌زایی ریزنمونه ها در محیط کشت MS حاوی BA $\mu m\ l^{-1}$ ۱۱/۱ به دست آمد. برای یک ریزازدیادی موفق چندین فاکتور وجود دارد که یکی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هستند (Gomes and Canhoto, 2003). سیتوکینین‌ها معمولاً در محیط‌های ریزازدیادی برای تحریک شاخه‌زایی استفاده می‌شود (El-Agamy, 2009). تحقیقات زیادی نشان داد که BA باعث افزایش القای شاخه‌زایی و طول شاخه می‌شود (Kaviani *et al*, 2015). BA در مقایسه با سایر تنظیم کننده‌های رشد بیشترین اثر روی القای شاخه‌زایی دارد (Kaviani *et a*l, 2015). در گیاه اسپاتی‌فیلوم سیتوکنین‌ها بیشترین نقش در شاخه‌زایی را داشتند. استفاده از اکسین IAA سطوح بالاتری از شاخه‌زایی را در مقایسه با سیتوکینین‌ها به جز BA داشت (Kaviani *et al*, 2015). نتایج ما نشان داد که حضور NAA برای القای ریشه‌زایی و رشد ضروری است. یافته‌های ما با نتایج سایر پژوهشگران مطابقت دارد. (Jain and Ochatt, 2010). مطالعات Ali *et al*. (2007) روی ریزازدیادی کالادیوم نشان داد که، بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی NAA $mg\ l^{-1}$ ۱به دست آمد. در این غلظت بیشتر گیاهان بیشترین میزان ریشه‌زایی را بعد از ۸ روز نشان دادند. Mujib *et al*. (2000) گزارش کردند که، بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت MS حاوی IBI $mg\ l^{-1}$ ۲ بدست آمد. این غلظت برای تمام محیط‌های کشت ریزازدیادی به‌منظور ریشه‌زایی مؤثر است. اکسین‌ها موجب افزایش جوانه‌زنی، القای ریشه‌زایی و رشد بذرها در بسیاری از گونه‌ها می‌شود (Jain and Ochatt, 2010). Pierik (1987) بیان کردند که، NAA یک اکسین قوی می‌باشد که غلظت‌های پایین آن در ریشه‌زایی مؤثر می‌باشد. ریشه‌زایی یک مرحله مهم در یک ریزازدیادی موفق است. بدون یک سیستم ریشه مؤثر قسمت هوایی گیاه هم ممکن است دچار مشکل شود و میزان تکثیر گیاه به‌شدت تحت تأثیر قرار خواهد گرفت. نوع اکسین و غلظت‌های مختلف آن به‌طور معنی‌داری در ریشه‌زایی و طول ریشه مؤثر می‌باشد.

منابع

Ahmad, E.U., Hayashi, T. and Yazawa, S. 2004. Auxins increase the occurrence of leaf-colour variants in *Caladium* regenerated from leaf explants. Scientia Horticultureae, 100: 153–159.

Ali, A., Munawar, A. and Naz, S. 2007. An *in vitro* study on micropropagation of C*aladium bicolor*. International Journal of Agriculture and Biology, 9 (5): 731-735.

Chan, L., Tan, C.M. and Chew, G.S. 2003. Micropropagation of the Araceae ornamental plants. Acta Horticulture, 606: 383–390.

Deng, Z. and Harbaugh, B.K. 2006. 'Garden White'-A large white fancy-leaved *Caladium* for sunny landscapes and large containers. HortScience, 41: 840–842.

Deng, Z., Hu, J., Goktepe, F. and Harbaugh, B. 2007. Assessment of genetic diversity and relationships among caladium cultivars and species using molecular markers. Journal of American Society for Horticultural Science, 132: 147–277.

El-Agamy, S.Z. 2009. *In vitro* propagation of some grape root stocks. Acta Horticulture, 839: 125–132.

George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, J.D. 2008. Plant propagation by tissue culture. The Background, Springer, 1: 65–75.

Gill, R.I.S., Gill, S.S. and Gosal, S.S. 1994. Vegetative propagation of *Eucalyptus tereticornis* Sm. through tissue culture. Bangladesh Association for Plant Tissue Culture, 4: 59–67.

Gomes, F. and Canhoto, J.M. 2003. Micropropagation of *Eucalyptus nitens* Maiden (Shining gum). *In Vitro* Cell Development and Biology Plant, 39: 316–321.

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

Kaviani, B., Hashemabadi, D., Khodabakhsh, H., Onsinejad, R., Ansari, M.H. and Haghighat, N., 2015. Micropropagation of *Begonia rex* Putz. by 6-benzyladenine (BA) and α-naphthalene acetic acid (NAA). International Journal of Biosciences, 6 (5): 8-15.

Mujib, A., Bandyopadhyay, S. and Ghosh, P.D. 2000. Tissue culture derived plantlet variation in *Caladium bicolor* L. - An important ornamental. Plant Tissue Culture, 10: 149–55.

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

Nhut, D.T., Hai, N.T. and Phan, M.X. 2010. A highly efficient protocol for micropropagation of *Begonia tuberous*. In: Jain SM, Ochatt SJ (eds) Protocols for *In Vitro* Propagation of Ornamental Plants, Springer protocols. Humana Press, pp. 15-20.

Pati, P.K., Rath, S.P., Sharma, M., Sood, A. and Ahuja P.S. 2005. *In vitro* propagation of rose – a review. Biotechnology Advance, 94–114.

Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* culture of higher plants. Dordrecht, The Netherlands, Martinus Nijhoff, 45–82.

Siddiqui, F.A., Naz, S. and Iqbal, J. 1993. *In vitro* propagation of carnation. Advances in plant tissue culture. Proceedings of the 3rd National Meeting of Plant Tissue Culture Pakistan, pp. 43–47.

Thepsithar, C., Thongpukdee, A. and Chiensil, P. 2010. Micropropagation of *Caladium bicolor* (Ait.) Vent. 'Thep Songsil' and incidence of somaclonal variants. International Society for Horticultural Science, XXIII International EUCARPIA Symposium, Abstract.

Effect of Plant Growth Regulator on Micropropagation of *Caladium Bicolor*

Hassan Abedini Aboksari[1*], Behzad Kaviani[2]
[1] Ph.D. Student, Department of Horticultural Science, Science and Researches branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
[2]Department of Horticultural Science, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran
[*]Corresponding Author: hassan.abedini@yahoo.com

Abstract

***Caladium* is a genus of flowering plants in the family of Araceae. *In vitro* propagation techniques could allow for the production of physiologically uniform clonal plants and potentially rapid multiplication. Leaf explants of *Caladium bicolor* (Aiton) Vent. were cultured *in vitro* on MS media supplemented with 25 different concentrations of BAP and NAA in order to determine the appropriate concentrations for micropropagation. All combinations induced callus formation on explants. The medium enriched with 4 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} NAA was the most effective for callus formation. The largest number of shoots and roots were regenerated on media containing 1 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} NAA and 3 mg l^{-1} BAP + 0.5 mg l^{-1} NAA, respectively. The regenerated plantlets were grown in a greenhouse and acclimatized successfully.**

Keywords: Plant growth regulators, Ornamental plant, Tissue culture