تکثیر کلونال درخت باران طلایی (*Koelreuteria paniculata*)در شرایط درون شیشه ای

محمد سجاد کمالی[۱]، لیلا سمیعی*[۲]، محمود شور[۱]، زهرا کریمیان[۲]
[۱*] گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
[۲] گروه پژوهشی گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد
*نویسنده مسئول:samiei@um.ac.ir

چکیده

درخت باران طلایی *(Koelreuteria paniculata)*گیاهی متعلق به تیره Sapindaceae و بومی چین می‌باشد. این گیاه به دلیل گل‌ها و میوه هایی زیبایی که تولید می‌کند و همچنین مقاومت بالا به شرایط نامساعد محیطی، یکی از گیاهان مورد توجه جهت استفاده در فضای سبز شهری می‌باشد. روش طبیعی تکثیر این گیاه از طریق بذر می باشد منتهی به دلیل جوانه زنی پایین بذور این گیاه و همچنین عدم دستیابی به گیاهان یکنواخت و شبیه اصل از این طریقُ، معمولا از روش های رویشی جهت تکثیر این گیاه استفاده می‌شود. هدف از انجام این تحقیق دستیابی به پروتکل بهینه جهت ریزازدیادی این گیاه ارزشمند با استفاده از روش باززایی مستقیم بود. بدین منظور از جوانه‌های جانبی گیاهچه‌های حاصل از کشت بذور در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. ریزنمونه‌ها در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بنزیل آمینو پورین (BAP)، کینتین (Kin) و تیدیازورون (TDZ) کشت شدند.

سپس گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی ۰/۶ میلی گرم بر لیتر از ایندول بوتریک اسید (IBA) ریشه‌دار شدند و با موفقیت در شرایط برون شیشه‌ای سازگار گردیدند. نتایج نشان داد که بیشترین میزان پرآوری شاخساره، درصد باززایی، طول شاخساره و همچنین تعداد برگ در محیط حاوی ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر BAP بدست آمد. کمترین میزان پرآوری شاخساره نیز در محیط‌های کشت حاوی تنظیم کننده رشد Kin مشاهده شد. در مجموع نتایج این تحقیق منجر به دستیابی به یک روش بهینه جهت ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه باران طلایی گردید که این امر زمینه را جهت انجام آزمایش‌های گسترده‌تر جهت بهره‌برداری بیشتر از این گیاه با ارزش فراهم می‌نماید.

کلمات کلیدی: پرآوری، باززایی مستقیم، سیتوکینین، جوانه جانبی

مقدمه

درخت باران طلایی به نام علمی *Koelreuteria paniculata* از خانواده Sapindaceae ، بومی شمال چین، کره و ژاپن می باشد. این درخت نسبتا سریع الرشد و دارای گل‌ها و میوه‌های بسیار زیبایی می‌باشد. درخت باران طلایی قابلیت تحمل بالایی به شرایط نامساعد محیطی دارد و در طیف وسیعی از خاک‌های مختلف قابلیت رشد دارد. این گیاه دارای برگ‌های مرکب به طول ۴۰ سانتی‌متر است. هر برگ ۷ تا ۱۷ برگچه دارد. برگ‌ها در بهار برنزه هستند، در تابستان سبز رنگ می‌شوند و در پاییز به رنگ زرد در می‌آیند و جلوه بسیار زیبایی را در فضای سبز به وجود می‌آورند. گلهای این گیاه زرد رنگ است که بر روی گل آذینی به طول ۲۰ تا ۴۰ سانتی‌متر رشد میکند. میوه‌ها سه بخشی اند که در وسط هر بخش ۱ یا ۲ بذر گرد به رنگ قهوه‌ایی تیره قرار گرفته‌اند که حدود ۵ تا ۸ میلیمتر قطر دارند (Rehmen et al, 2000).

این درخت مدتی است که به صورت بسیار محدود در فضای سبز برخی از شهرهای ایران کشت و کار می‌گردد و علی رغم دارا بودن ویژگی‌های بصری بسیار ارزشمند، در فضای سبز شهری، مورد توجه چندانی واقع نشده است که یکی از دلایل این امر می‌تواند مشکل تکثیر گیاه از طریق بذر باشد زیرا بذور این گیاه درصد جوانه زنی پایینی دارند. امروزه روش‌های نوین ازدیاد گیاهان مانند روش ریز ازدیادی جایگزین روش‌های تکثیر کلاسیک شده است و بسیاری از گونه‌های زینتی

IrHC2019

و دارویی و زراعی از این طریق تکثیر می‌شوند (Esmaeili, *et al*., 2016; Samiei *et al*., 2018). از مزایای این روش سرعت و راندمان بالای تکثیر و همچنین دستیابی به گیاهان یکنواخت، سالم و عاری از عوامل بیماریزا می باشد (Carrillo-Bermejo *et al*., 2018). هدف از انجام این تحقیق دستیابی به پروتکل مناسب تولیدگیاه باران طلایی از طریق سیستم باززایی مستقیم با استفاده از ریزنمونه جوانه جانبی در محیط درون شیشه ای بود.

مواد و روش‌ها

بذور درخت باران طلایی در ابتدای فصل پاییز جمع آوری گردید. سپس به مدت دو ماه جهت شکستن دوره خواب در دمای ۴ درجه سانتی گراد در یخچال نگهداری شد. پس از آن بذور ابتدا جهت ضدعفونی به مدت ۱ دقیقه در الکل ۷۰ درصد قرار گرفتند و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد ضدعفونی شدند و در انتها به مدت ۱۵ دقیقه و سه مرتبه با آب مقطر دو بار تقطیر استریل آبشویی شدند. پس از آن بذور به منظور جوانه زنی و تولید گیاهچه در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) فاقد تنظیم کننده رشد کشت گردیدند. پس از گذشت یک ماه، از گیاهچه‌های حاصل جوانه‌های جانبی به طول یک سانتی متر به‌عنوان ریز نمونه تهیه شد و این ریزنمونه‌ها در محیط پرآوری کشت گردیدند. محیط پرآوری شامل محیط کشت MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد BAP، Kin و TDZ هر کدام به غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر به صورت جداگانه بود. ریزنمونه‌ها هر چهار هفته و به مدت دو ماه در محیط کشت مشابه واکشت شدند و در انتهای آزمایش شاخص‌های پرآوری شامل درصد باززایی گیاه، تعداد شاخساره، تعداد برگ، طول شاخساره و اندازه برگ ثبت گردید. سپس شاخساره‌های ایجاد شده به طول حداقل ۳ سانتی متر، به محیط ریشه زایی حاوی تنظیم کننده رشد IBA به غلظت ۰/۶ میلی گرم بر لیتر انتقال یافتند. پس از گذشت یک ماه و ریشه دار شدن ریزنمونه‌ها، گیاهچه‌های حاصل به محیط خارج از شیشه انتقال یافتند و در بستر کشت استریل حاوی کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) کشت گردیدند. گیاهچه‌ها در اتاقک رشد پس از یک ماه سازگار گردیدند. آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار و هر تکرار حاوی ۵ ریزنمونه انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آنالیز واریانس و برای مقایسه میانگین داده‌ها از آزمون دانکن استفاده شد. کلیه محاسبات با استفاده از نرم افزار SPSS (Ver. 23) صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

نتایج این آزمایش نشان داد تنظیم کننده‌های رشد تاثیر معنی‌داری بر میزان پرآوری شاخساره در گیاه باران طلایی داشتند (جدول ۱). مطابق با نتایج بدست آمده، بالاترین میزان پرآوری شاخساره در تیمارهای حاوی تنظیم کننده رشد BAP و پس از آن TDZ بدست آمد. کمترین میزان پرآوری شاخساره در محیط‌های کشت حاوی Kin مشاهده شد.

ریزنمونه‌های رشد یافته در محیط‌های کشت حاوی ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر BAP بالاترین میزان پرآوری را نشان دادند (شکل ۱). لازم به ذکر است که تنظیم کننده رشد BAP یکی از موثرترین سیتوکینین‌ها در محیط کشت بافت می‌باشد و بسیاری از تحقیقات کشت بافت نیز برتری این تنظیم کننده رشد را در خصوص پرآوری گیاهان در مقایسه با سایر سیتوکینین‌ها را تایید می نماید (Ghimire *et al*., 2010; Monney *et al*., 2016). TDZ اگرچه به عنوان یک ترکیب شبه سیتوکینینی قوی شناخته شده است اما ممکن است در برخی موارد از تشکیل شاخساره ممانعت نماید و یا منجر به تولید شاخساره های غیر طبیعی شود (Preece *et al*., 1991).ریزنمونه های پرورش یافته در محیط حاوی ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر BAP بیشترین تعداد برگ در گیاه را نیز تولید نمودند که این میزان تفاوت معنی داری با ریزنمونه های پرورش یافته در تیمارهای حاوی TDZ و Kin نشان داد. درصد باززایی شاخساره نیز در تیمارهای حاوی BAP در مقایسه با سایر تیمارها بالاترین بود (شکل ۲). همچنین اگرچه تفاوت معنی داری بین تیمارها از لحاظ طول شاخساره مشاهده نشد، ولی بالاترین طول شاخساره در تیمار حاوی ۱ میلی گرم بر لیتر از BAP مشاهده شد. انتقال گیاهچه‌های پرآوری شده به محیط کشت ریشه‌زایی حاوی ۰/۶ میلی گرم بر لیتر IBA منجر به ریشه‌زایی ۱۰۰ درصد نمونه‌ها پس

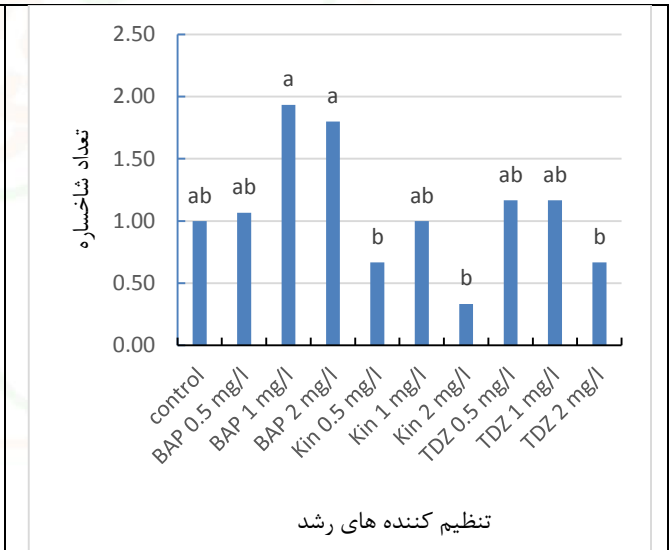
IrHC2019

از گذشت ۴ هفته از آزمایش گردید. میزان زنده‌مانی ریزنمونه‌ها در محیط سازگاری نیز در حدود ۹۵ درصد بود که پس از سازگاری، گیاهان تولید شده به گلخانه انتقال یافتند. نتایج نشان داد که برای پرآوری ریزنمونه‌های های درخت باران طلایی به روش باززایی مستقیم از جوانه جانبی، استفاده از تنظیم کننده رشد BAP با غلظت ۱ و یا ۲ میلی گرم در لیتر نقش موثری در پرآوری شاخساره در این گیاه دارد (شکل ۳). در مجموع نتایج این تحقیق منجر به دستیابی به روش ساده و بهینه جهت ازدیاد درون شیشه ای گیاه باران طلایی گردید که این امر زمینه را جهت انجام آزمایش‌های گسترده تر جهت بهره برداری بیشتر از این گیاه با ارزش فراهم می نماید.

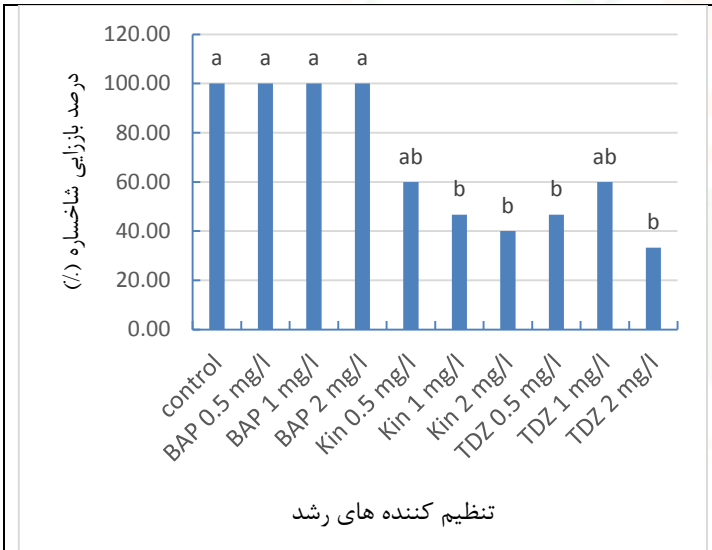
جدول۱ -تجزیه واریانس شاخص های پرآوری گیاه باران طلایی تحت تأثیر ترکیبات مختلف تنظیم کننده های رشد در شرایط درون شیشه ای

منبع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات				
		درصد باززایی				تعداد
		اندازه برگ	شاخساره	طول شاخه	تعداد برگ	شاخساره
محیط های کشت	۹	۸,۸	۲۱۳۴۶.۶۶۷**	۱۸,۷۵۸	۱۳۷.۱۷۸**	۶.۵۲۱**
خطا	۲۰	۹,۵۵۸	۱۲۸۰۰.	۴۷,۴۰۲	۴۷,۰۶۴	۵,۱۸

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد



شکل ۱- اثر تنظیم کننده‌های رشد مختلف بر تعداد شاخساره باززایی شده از ریزنمونه‌های جوانه جانبی گیاه باران طلایی



شکل ۲- اثر تنظیم کننده‌های رشد مختلف بر درصد باززایی شاخساره از ریزنمونه‌های جوانه جانبی گیاه باران طلایی

IrHC2019

شکل ۳- مراحل مختلف ریزازدیادی درخت باران طلایی

منابع

Bairu, M. W., Stirk, W. A., Dolezal, K. and Van Staden, J. 2007. Optimizing the micropropagation protocol for the endangered Aloe polyphylla: can meta-topolin and its derivatives serve as replacement for benzyladenine and zeatin? Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 90(1), 15-23.

Carrillo-Bermejo, E. A., Herrera-Alamillo, M. A., González-Mendoza, V. M., Pereira-Santana, A., Keb-Llanes, M. A., Castaño, E. 2019. Comparison of two different micropropagation systems of Saccharum officinarum L. and expression analysis of PIP2; 1 and EIN3 genes as efficiency system indicators. Plant Cell, Tissue and Organ Culture,136 (2):399-405.

Esmaeili, G., Azizi, M., Aroei, H., and Samiei, L. 2016. Micropropagation of Astragalus adscendens: A Source of Gaz-angabin Manna in Iran (Persian Manna). Journal of Agricultural Science and Technology,18, 741-750.

Ghimire, B., Seong, E., Goh, E., Kim, N., Kang, W. and Kim, E. 2010. High-frequency direct shoot regeneration from Drymaria cordata Willd. leaves.Plant Cell, Tissue and Organ Culture 100(2), 209-217.

Monney, M. A. D., Amissah, N., and Blay, E. 2016. Influence of BA and IBA or NAA Combinations on Micropropagation of Cryptolepis sanguinolenta. American Journal of Plant Sciences, 7(03), 572.

Preece, J. E., Huetteman, C. A., Ashby, W. C., & Roth, P. L. 1991. Micro-and cutting propagation of silver maple. I. Results with adult and juvenile propagules. Journal of the American Society for Horticultural Science, 116(1), 142-148.

Rehman, S., and Park, I. H. 2000. Effect of scarification, GA and chilling on the germination of goldenrain-tree (Koelreuteria paniculata Laxm.) seeds. Scientia Horticulturae, 85(4), 319-324.

Samiei, L., Panhehkolayi, M. D., Mirshahi, H., & Karimian, Z. 2018. A simple and efficient micropropagation protocol for New Guinea Impatiens (Impatiens hawkeri). Journal of Environmental Biology, 39(4), 454-458.

IrHC2019

In vitro clonal propagation of golden rain tree (*Koelreuteria paniculata*)

Mohammad SajadKamali[1], Leila Samiei[2*], Mahmood Shoor[1], Zahra karimian[2],
[1]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad.
[2] Department of Ornamental Plants, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad
[*]*Corresponding Author: Samiei@um.ac.ir*

Abstract

Golden rain tree (*Koelreuteria paniculata*), belongs to Sapindaceae family, and is a native plant to China. This is a species of great value in urban landscape due to its attractive flowers and fruits as well as its great potential in coping with adverse environmental conditions. The purpose of this study was to develop an efficient protocol for micropropagation of golden rain tree through direct organogenesis. For this purpose, in vitro seedling-derived axillary buds were inoculated on Murashige and Skoog medium supplemented with various concentrations of Benzylaminopurin (BAP), Kinetin (Kin) and Thidiauron, separately. Then proliferated shoots were transferred to rooting medium containing 0.6 mg/l Indulbutheric acid (IBA) and rooted seedlings were acclimated successfully in ex vitro condition. The results indicated that BA at 1 or 2 mg/l was the most effective cytokinin in mediating the highest proliferation rate as the maximum shoot per explant, percentage of shoot regeneration, shoot length and leaf number achieved in this medium. However, kinetin has been proved to be the least effective cytokinin in shoot proliferation in this experiment. Overall, the results of this experiment lead to an efficient micropropagation protocol for golden rain tree which provides the basis for more extensive experiments to exploit this valuable plant.

***Keywords*:** axillary bud, cytokinin, direct organogenesis, proliferation

IrHC2019