بهبود ریز ازدیادی بگونیا رکس (Begonia rex) به کمک نفتالین استیک اسید و بنزیل آدنین

حسین خدابخش [1]، بهزاد کاویانی [2]، رسول انسی نژاد [2]، سارا ذکی زاده رودسری [1]، محمد زرچینی [3*]

1- دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. 2- استادیار و عضو هیئت علمی گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت. 3- عضو باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت.

مسئول مکاتبات: m.zarchini@gmail.com و تلفن 09355349511

چکیده

به منظور بررسی تاثیر نفتالین استیک اسید و بنزیل آدنین بر ریز ازدیادی بگونیا رکس مطالعه ای در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح بلوک های کامل تصادفی با دو فاکتور تنظیم کننده‌های رشد NAA در چهار سطح (0، 0/1، 0/25 و 0/5 میلی گرم در لیتر) و BA در چهار سطح(0، 0/5، 0/6 و 1 میلی‌گرم در لیتر) و اثر متقابل آنها در محیط کشت MS بود. این آزمایش با 24 تیمار و هر یک از تیمارها با سه تکرار اعمال گردید. در پژوهش حاضر، تأثیر غلظت‌های مختلف NAA و BA بر شاخساره زایی و اندام‌زایی بگونیا در محیط کشت MS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که NAA و BA هر یک به تنهایی بر روی تمامی صفات به‌غیر از وزن تر، در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شدند. نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که 0/1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و 0/5 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین بیشترین طول ریشه، وزن خشک و تعداد شاخساره را رقم زدند و باعث بهبود ریز ازدیادی بگونیا گردیدند.

کلمات کلیدی: نفتالین استیک اسید، بگونیا رکس، تنظیم کننده های رشد گیاهی، شاخساره زایی

مقدمه

جنس بگونیا دارای 1200 گونه و متعلق به خانواده Begoniaceae است. علاوه بر این گونه‌ها، تعدادی هیبرید و ارقام جدید همواره به-دلیل جهش یا دورگ‌گیری به‌دست می‌آیند. بگونیاها، گیاهان همیشه سبزی بوده، که در برخی گونه‌ها به‌خاطر برگ‌های زیبا و زینتی خود، و در گونه‌های دیگر برای گل‌های زیبایشان پرورش داده می‌شوند. بگونیای برگی با نام علمی(Begonia rex)، به‌خاطر شکل و رنگ زیبای برگ‌هایش، از گیاهان برگ زینتی بسیار محبوب بوده و ارزش اقتصادی بالایی دارد(آقابیگی، 1380). ازدیاد بگونیا رکس از طریق قلمه برگ و تقسیم ریزوم می‌باشد. در روش تکثیر از طریق قلمه برگ، احتمال شیوع بیماری‌های قارچی و باکتریایی وجود دارد که این بیماری‌ها، اثر ناخوشایندی بر ظاهر برگ‌ها گذاشته و بازارپسندی گیاه را کاهش می‌دهند. همچنین تکثیر از طریق برگ در مقایسه با روش تقسیم ریزوم از نظر زمان ازدیاد، طولانی‌تر است. روش تقسیم ریزوم هم یک روش کم بازده و زمان‌بر می‌باشد و مشکل انتقال بیماری‌ها به‌ویژه بیماری‌های ویروسی را دارد. بیماری‌های ویروسی، برگ‌ها را لوله‌ای و بدشکل نموده و پس از ابتلا دیگر راه درمانی برای گیاه وجود نخواهد داشت. علاوه برآن، ازدیاد بگونیا رکس توسط این دو روش، جواب‌گوی بازار مصرف این گیاه نیست. امروزه می‌توان این گیاه را توسط روش‌های ریزازدیادی، که روش‌های مؤثر تخصصی می‌باشند، تکثیر نمود و بر محدودیت‌ها و مشکلات تکثیر سنتی غلبه کرد(خلیقی، 1364). ازدیاد رویشی بگونیاها با کاربرد فنون کشت بافت و به کمک تنظیم کننده های رشد گیاهی بهبود پیدا کرده است و بدین وسیله می‌توان تعداد زیادی گیاه کاملاً مشابه با پایه مادری در زمان کوتاه به‌دست آورد(کیوکاوا و همکاران، 1996).

در کشت‌های درون شیشه‌ای، اکسین‌ها معمولاً به‌منظور تحریک تقسیم سلولی و تمایز و طویل شدن آنها به‌کار می‌روند. در ریزازدیادی از اکسین‌های ایندول استیک اسید(IAA)، ایندول بوتریک اسید(IBA)، NAA، ۲،۴- دی کلروفنوکسی استیک اسید(۴،۲-D)،

۲،۴،۵- تری کلروفنوکسی استیک اسید(T-۵،۴،۲) استفاده می‌شود(کومار و همکاران، 2005). اکسین‌های NAA و IAA اغلب به‌منظور ریشه‌زایی یا همراه با یک سیتوکینین برای پرآوری شاخساره استفاده می‌شوند(بجوانی و رازدان، 1996). کالیداس و همکاران(2010) بیان نمودند در گیاه پروانش(.Catharanthus roseus L)، از بین اکسین‌ها، D-۴،۲ تأثیر بیشتری نسبت به NAA در رشد کالوس داشت. پیریک(1997) طی تحقیقاتی روی گل سنبل بیان داشت که اکسین‌ها به‌طور عمومی باعث رشد بافت‌ها، شکل‌گیری کالوس و به‌خصوص ممانعت از شکل‌گیری ساقه جانبی می‌گردند. سیتوکینین‌ها، باعث رشد بافت‌ها، تحریک تقسیم سلولی، اندام‌زایی و تمایزیابی شاخه‌ها در گیاهان می‌شوند. در کشت بافت گیاهی، نقش سیتوکینین‌ها در تحریک نمو جوانه‌های جانبی از طریق کاهش غالبیت انتهایی بسیار با اهمیت است. سیتوکینین‌ها در حضور گرما پایدار هستند و ممکن است قبل از اتوکلاو کردن به محیط کشت اضافه شوند(داج، 1993). پرکاربردترین سیتوکینین‌های مصنوعی در ریزازدیادی؛ کینیتین(KIN)، بنزیل‌آمینوپورین(BAP) و BA می‌باشند. همچنین سیتوکینین‌های طبیعی چون زآتین(Zeatin) و 2-ایزوپنتنیل آدنین(2-ip) نیز کاربرد وسیعی دارند. استفاده از این ترکیبات در محیط کشت به تنهایی یا همراه سایر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، به‌ویژه اکسین‌ها، متداول است. در بگونیا(Begonia rex) بالاترین میزان شاخه‌زایی با تعداد 41/6 عدد در محیط کشت MS به همراه 0/5 میلی‌گرم در لیتر IBA و 1 میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد(کبیراناتاج و همکاران، 2012).

هدف از انجام این مطالعه بررسی تاثیر تنظیم کننده های رشد گیاهی بر بهبود ریز ازدیادی بگونیا است.

مواد و روش ها

در پژوهش حاضر، برگ‌های بگونیا رکس (Begonia rex) از گلخانه‌ای در شهر عباس آباد تهیه شدند و به‌عنوان ریزنمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. ریزنمونه‌ها پس از تهیه، در محلول آب و مایع ظرف‌شویی قرار داده می‌شوند. بعد از انتقال به آزمایشگاه، برگ‌ها آبکشی و مراحل ضدعفونی شروع می‌شود. ابتدا برگ‌ها به مدت 2 دقیقه در قارچ‌کش کاربوکسی تیرام 2 در هزار قرار گرفته، بعد در محلول آب و توئین 20 درصد به مدت 20 دقیقه می‌مانند. سپس توسط آب روان به مدت 10 دقیقه آبکشی می‌شوند. بعد به زیر هود منتقل می‌گردند. در زیر هود ریزنمونه‌ها ابتدا 4 ثانیه در الکل 70 درصد، بعد 7 دقیقه در کلرید جیوه 1 درصد، سپس 10 دقیقه در هیپوکلرید سدیم 20 درصد قرار می‌گیرند و در نهایت 3 بار توسط آب مقطر استریل آبکشی می‌گردند. در این تحقیق از محیط کشت جامد MS(موراشیک و اسکوگ، 1962) استفاده شد.

تیمارهای اعمال شده در این پژوهش شامل تنظیم کننده‌های رشد NAA در چهار سطح (0، 0/1، 0/25 و 0/5 میلی‌گرم در لیتر) و BA در چهار سطح(0، 0/5، 0/6 و 1 میلی‌گرم در لیتر) و اثر متقابل آنها در محیط کشت MS بود. این آزمایش با 24 تیمار و هر یک از تیمارها با سه تکرار به صورت فاکتوریل اعمال گردید. لازم به ذکر است که هر تکرار نیز، 2 عدد ریزنمونه در هر شیشه را شامل می‌شد. در این مطالعه طول ریشه، وزن تر، وزن خشک و تعداد شاخساره ارزیابی شد. طول ریشه توسط خط‌کش یا کولیس اندازه‌گیری شد. وزن تر توسط ترازوی حساس دیجیتالی اندازه‌گیری گردید و برای اندازه‌گیری وزن خشک، ابتدا نمونه‌ها در آون با دمای 105 درجه سانتی‌گراد به‌مدت 24 ساعت قرار گرفتند، سپس با ترازوی حساس دیجیتالی وزن آنها اندازه‌گیری گردید(واحد اندازه‌گیری برای وزن تر و وزن خشک برحسب گرم بود). تجزیه و تحلیل داده‌ها به کمک نرم افزار SPSS و SAS و مقایسه میانگین تیمارها به کمک روش LSD انجام شد.

نتایج و بحث

در پژوهش حاضر، تأثیر غلظت‌های مختلف NAA و BA بر ریشه‌زایی و اندام‌زایی بگونیا در محیط کشت MS مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که NAA و BA هر یک به تنهایی بر روی تمامی صفات به‌غیر از وزن تر، در سطح یک درصد آماری معنی‌دار شدند.

نتایج مقایسه میانگین تیمارها در مورد تأثیر NAA بر طول ریشه نشان داد که، بالاترین طول ریشه به‌میزان 3/83 سانتی‌متر، در تیمار 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین آن به‌میزان 2/16 سانتی‌متر در تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد(جدول 4-2 و شکل 4-1). همچنین طول ریشه در تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین میزان را با اندازه 4/41 سانتی‌متر و در تیمار شاهد کمترین میزان را با اندازه 2/33 سانتی‌متر داشته است(جدول 1).

جدول 4-2- مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف NAA و BA بر طول ریشه، وزن تر، وزن خشک، تعداد برگ، تعداد ریشه، تعداد گره و تعداد شاخساره در بگونیا(Begonia rex)*

تیمارها	طول ریشه(سانتی-متر)	وزن تر(گرم)	وزن خشک(گرم)	تعداد شاخساره
N1	a1667/3	a695/2	a5350/1	c23/25
N2	a8333/3	a333/6	a6910/1	a13/51
N3	a2211/3	a894/2	a6483/1	b81/39
N4	b1667/2	a706/1	b9783/0	d16/24
B1	b3333/2	a892/1	c112/1	d17/20
B2	a4167/4	a694/3	a0258/2	a71/52
B3	a5833/3	a028/6	b6967/1	b14/41
B4	b4167/2	a015/2	c1467/1	c99/22
N1B1	a00000000/2	a7266667/1	a9833333/0	a00/33
N1B2	a33333333/4	a7266667/1	a06000000/2	a43/37
N1B3	a66666667/3	a1133333/3	a77666667/1	a56/38
N1B4	a66666667/2	a3333333/2	a32000000/1	a11/34
N2B1	a00000000/2	a5066667/1	a00000000/1	a00/40
N2B2	a00000000/6	a5366667/3	a71333333/2	a33/44
N2B3	a33333333/4	a3166667/4	a09666667/2	a26/42
N2B4	a00000000/3	a5733333/2	a47000000/1	a14/39

N3B1	a66666667/3	a0000000/3	a71333333/1	a66/41
N3B2	a33333333/4	a4633333/3	a97666667/1	a00/42
N3B3	a00000000/4	a2600000/3	a84666667/1	a86/43
N3B4	a33333333/2	a8533333/1	a05666667/1	a23/40
N4B1	a66666667/1	a3333333/1	a75333333/0	a00/38
N4B2	a00000000/3	a3700000/2	a35333333/1	a22/39
N4B3	a33333333/2	a8200000/1	a06666667/1	a59/39
N4B4	a66666667/1	a3000000/1	a74000000/0	a00/37

N1، شاهد؛ N2، 0/1 میلی‌گرم در لیترNAA، N3، 0/25 میلی‌گرم در لیتر NAA و N4، 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA

B1، شاهد؛ B2، 0/5 میلی‌گرم در لیتر BA، B3، 0/6 میلی‌گرم در لیتر BA و B4، 0/1 میلی‌گرم در لیتر BA

*درهر ستون، حروف مشابه، نشان‌دهنده معنی‌دار نشدن اثر تیمار بر روی آن صفت است.

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارها نشان داد که بیشترین وزن خشک به‌میزان 1/69 گرم، در تیمار 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین آن به‌میزان 0/97 گرم، در تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد (جدول 1). نتایج مقایسه میانگین اثر BA بر وزن خشک بیانگر آن است که بیشترین وزن خشک به‌میزان 2/02 گرم تحت تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر BA و کمترین آن به‌میزان 1/12 گرم تحت تیمار شاهد حاصل گردید(جدول 1). نتایج مقایسه میانگین اثر NAA بر تعداد شاخساره نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره به‌میزان 51/13 از تیمار 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین تعداد آن به‌میزان 24/16 از تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد(جدول 1) . همچنین نتایج مقایسه میانگین اثر BA بر تعداد شاخساره حاکی از آن است که تیمار 0/5 میلی‌گرم در لیتر BA با تعداد شاخساره 52/71 بهترین تیمار و تیمار شاهد با تعداد شاخساره 20/17، نامناسب‌ترین تیمار بود(جدول 1).

برتری تیمارهای فوق را در صفات مختلف می توان به نقش تنظیم کننده های رشد اکسین و سیتوکینین بر رشد طولی سلول، تقسیم سلولی، بهبود بیوماس گیاهی، تحریک تشکیل مریستم های اولیه و ثانویه و تمایز بافت ها دانست (باقری و صفاری، 1382؛ خوشخوی، 1389). نتایج ما با یافته‌های اسکوگ و همکاران (1984) که بیان کردند، در گیاه بگونیا(Begonia hiemalis Fotsch) در محیط کشت MS، سیتوکینین‌ها به‌تنهایی هیچ اثری بر تشکیل ریشه نداشتند، مغایر بود. ولی طبق پژوهش کاسلز و موریش(1987)، NAA برای زنده ماندن و تشکیل ریشه از ریزنمونه‌های برگی بگونیا (Begonia rex) ضروری بود و به‌تنهایی باعث تشکیل بیشترین طول ریشه از ریزنمونه‌های بگونیا گردید. طبق آزمایشات احمدی حصار و همکاران (2011)، بیشترین طول ریشه(5/2 سانتی‌متر) در گیاه شب-بو(Mattiola incana) در محیط کشت MS حاوی 2 میلی‌گرم در لیتر KIN و 1 میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. گومز و همکاران (2010) نشان دادند که سیتوکینین‌ها به‌علت افزایش تقسیم سلولی اثر مثبتی بر افزایش طول ریشه توت فرنگی(.Arbutus unedo L) دارند. آزادی و خوشخوی(2007) در ارتباط با ریزازدیادی سوسن[Lilium ledebourri (Baker) Boiss]، بیشترین وزن تر پیازچه از محیط کشت MS حاوی 0/1 میلی‌گرم در لیتر NAA و 0/1 میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد. آیان و همکاران(2005) گزارش دادند که بیشترین وزن تر کالوس در گل راعی (Hypericum perforatum)، در محیط کشت MS حاوی 1 میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد.در بگونیا(Begonia rex) بالاترین میزان شاخه‌زایی با تعداد 41/6 عدد در محیط کشت MS به همراه 0/5 میلی‌گرم

در لیتر IBA و 1 میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد(کبیراناتاج و همکاران، 2012)، مندی و همکاران(2009) با مطالعه روی ریزازدیادی بگونیا(Begonia rex) بیان کردند که بالاترین درصد شاخه‌زایی در محیط MS همراه با 1 میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد که با نتایج ما منطبق است.

نتیجه گیری کلی

بر طبق نتایج ما 0/1 میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و 0/5 میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین بیشترین طول ریشه، وزن خشک و تعداد شاخساره را رقم زدند و باعث بهبود ریز ازدیادی بگونیا گردیدند.

منابع

آقابیگی، ف.، 1380. بگونیا. نشریه کشاورزی وصنعت، 23- 39.

باقری، ع.، ر.، و صفاری، م.، 1382. مبانی کشت بافت‌های گیاهی. ترجمه. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، چاپ دوم، 406 ص.

خلیقی، ا. 1364. گلکاری(پژوهش گیاهان زینتی ایران). انتشارات روزبهان، 392 ص.

خوشخوی، م. (ترجمه). 1389. گیاه افزایی (جلد سوم). انتشارات دانشگاه شیراز.

Ayan, A.K., Cirak, C., Kerserolu, K., and sokmen, A. 2005. Effect of explants type Different plant concentration of sucrose perforatum phytoharmonnes on plant regeneration and hypercin content in Hypericum perforatum L. Turkish journal of Agriculture, 29: 197-204.

Azadi, P., and Khosh-khui, M., 2007. Micropropagation of Lilium ledebourii (Baker) Boiss as affected by plant grown regulator, sucrose concentration, harvesting season and cold treatments. Electronic Journal of Biotechnology, 10(4): 582-591.

Cassels, A., C., and Morish, F., M. 1987. Variation in adventitious regenerants of Begoniarex Putx. Lucille closon as a consequence of cell ontogeny, callus ageing and frequency of callus sub-culture.Scientia Horticulturae, 32: 135-143.

Daj, D. 1993. Alternating cytokinins in multiplication media stimulates in vitro shoot growth and rooting of E.globulus Labill. Annals of Botony, 74: 53-58.

Gomes, F., simoes, M., Lopes, M., L., and canhoto, M. 2010. Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of Arbutus unedo L. New Biotechnology, 45(1): 72-82.

Hesar, A., Kaviani, B., and kharabian Masouleh, A. 2011. Micropropagation of Mattiola incana (Brasicaceae) an ornamental plant. American- Eurasian Journal. Agriculture and Environment scintia,11(3): 456-461.

Kabirantaj, S., Ghasemi, Y., Namatzadeh, Gh., Asgharzadeh, R., Kaleybar, B., and Yazdani, M. 2010. Effect of explant type and growth regulators on in vitro micropropagation of Begonia rex. International Research Journal of Applied and Basic Sciences, 3(4): 896-901.

Kalidass, C., V., Mohan, R., and Daniel., A.2010 Effect of auxin and cytokinin on vincristine production by callus cultures of catharanthus roseus L.(Apocynaceae). Thop, sub trop, Agroecosys, 12: 283-288.

Kiyokawa, T., Kikuchi, Y., Kamada, H., and Harada, H., 1996. Genetic transformation of Begonia tuberhybrida by Ri rol genes.plant cell Reproduction, 15: 606-609.

Kumar, s., Kashyap, M., and Sharma, O., R. 2005. In vitro regeneration and bulblet growth from lily bulb scale explants as affected by retardant, sucrose, and irradiance. Biologia plantarum, 48(4): 629-632.

Mendi, Y., Y., Curuk, P., Kocaman, E., Unek, C., Eldogan, S., Gencel, G., and cetiner, S. 2009. Regeneration of begonia plantlets by direct organogenesis. African Journal of Biotechnology, 8(9): 1860-1863.

Murashige, T., and skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with Tobacco cultures. Physiological Plant, 15: 473.

Pierik, R., L., M., 1975. Rapid vegetative propagation of Hyacinthus orientalis L. in vitro. Scientia Horticulturae, 3: 293-297.