

بررسی برخی از فاکتورهای مؤثر بر ریزازدیادی درختچه زینتی گل کاغذی در شرایط درون شیشه‌ای

طیبه طبری (۱)، موسی موسوی (۲)، مهرانگیز چهارازی (۲)

۱- کارشناس ارشد گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲- استادیار گروه باغبانی دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

در این پژوهش به منظور بهینه سازی فاکتورهای مؤثر در ریزازدیادی درون شیشه ای گل کاغذی چهار آزمایش انجام شد. در این آزمایشات از جوانه جانبی به عنوان ریزنمونه استفاده شد. در آزمایش اول دو تیمار ضدعفونی سطحی، در آزمایش دوم دو نوع ظرف کشت مجهز به میکرو فیلتر با تهویه طبیعی و بدون فیلتر کاملاً بسته، در آزمایش سوم ۴ ترکیب غذایی شامل MS کامل، B₅ کامل، نمک های MS با ویتامین های B₅، نمک های B₅ با ویتامین های MS، و در آزمایش چهارم تاثیر اکسین های NAA، 2,4-D و IBA بر درصد کالوس زایی برگ مقایسه شد. شاخص های اندازه گیری شده شامل تعداد برگ، طول ساقه، تعداد شاخه و درصد کالوس زایی بودند. نتایج نشان داد که تیمار ضدعفونی سطحی با هیپو کلریت سدیم به مدت ۴ دقیقه کمترین آلودگی را داشت. همچنین ظروف مجهز به فیلتر های میکرونی با تهویه طبیعی و محیط پایه MS کامل باعث رشد بهتر گیاهچه ها گردید. در این پژوهش نیز معلوم گردید که ۰/۱ میلی گرم بر لیتر هورمون 2,4-D تاثیر بیشتری بر تولید کالوس از ریزنمونه برگ گل کاغذی در شرایط درون شیشه ای داشت.

کلمات کلیدی: ریزازدیادی، گل کاغذی، ضدعفونی، ظرف تهویه دار، کالوس زایی

مقدمه:

گل کاغذی (*Bougainvillea*) با نام علمی *Bougainvillea Spp* از خانواده *Nyctaginaceae*، بومی آمریکای جنوبی می باشد (شاه و همکاران، ۲۰۰۶). گل های حقیقی این گیاه جاذبه خاصی ندارند و هر سه گل حقیقی با سه یا شش براکته رنگی احاطه شده اند که زیبایی گیاه به علت وجود همین براکته ها می باشد (حامد، ۲۰۰۹). به علت وجود همین براکته های ظریف و کاغذی گاهی به نام *paper flower* خوانده می شود. عموماً گل کاغذی از طریق قلمه تکثیر می شود، ولی به دلیل محدودیت تعداد قلمه های مناسب یک درخت، عدم تولید بذر و همچنین سخت ریشه زایی بودن بعضی از ارقام آن تکثیر آن سخت می باشد (شاه و همکاران، ۲۰۰۶). تکنیک کشت بافت به طور موفقیت آمیزی برای تولید تعداد زیادی از گیاهانی که تکثیرشان مشکل است به کار می رود. همچنین کشت بافت می تواند گام موثری در اصلاح این گیاه داشته باشد. هدف از انجام این پژوهش، بهینه سازی فاکتورهای مؤثر در ریزازدیادی گل کاغذی و بدست آوردن بهترین روش ضدعفونی، بهترین نوع ظرف کشت، بهترین محیط پایه و بهترین هورمون جهت کالوس زایی بود.

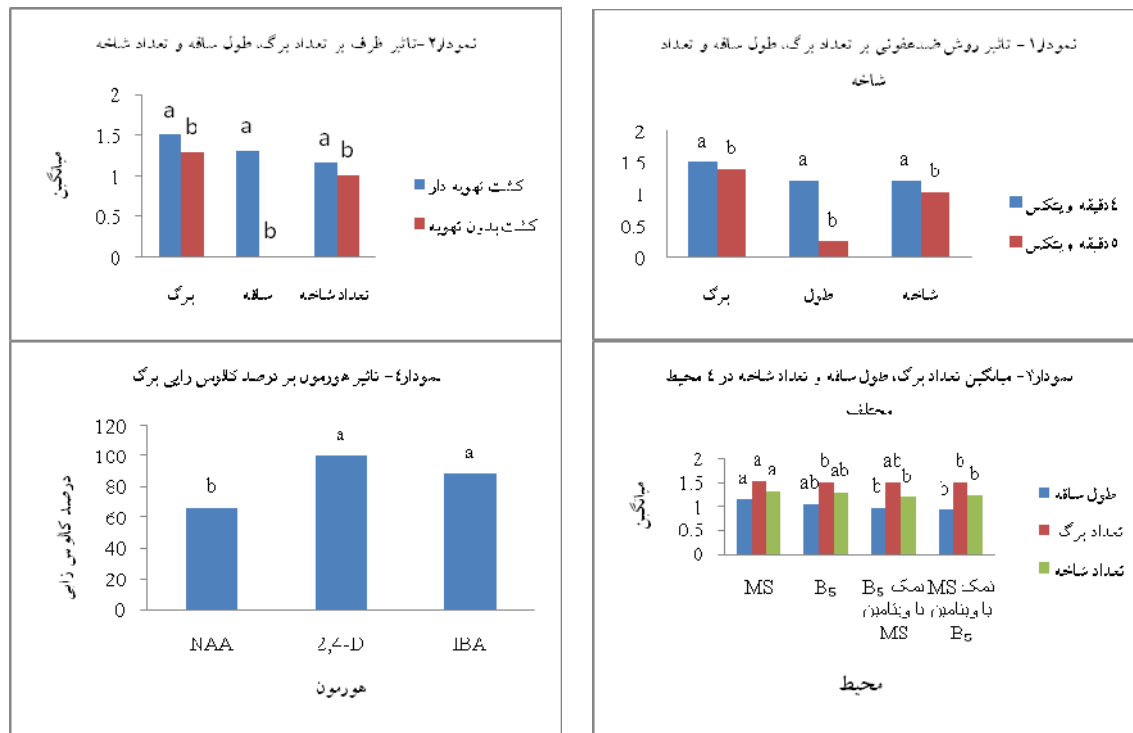
مواد و روش ها:

ریزنمونه ها شامل قطعاتی از شاخه های با رشد جدید بوده که از درختچه گل کاغذی آجری (*Bougainvillea glabra*) واقع در کلکسیون دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز جمع آوری شده و بلافاصله به آزمایشگاه انتقال داده شدند. یک سانتی متر از ریزنمونه ها که دارای یک گره است با دو حالت ضدعفونی سطحی شدند. در حالت اول ریزنمونه ها به ترتیب با آب جاری، اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه، وایتکس ۵۰٪ (با ۵٪ هیپوکلریت سدیم) به مدت چهار دقیقه و سپس ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل، ضدعفونی شدند. در حالت دوم به جای ۴ دقیقه از ۵ دقیقه وایتکس استفاده شد. در آزمایش دوم تاثیر نوع ظرف کشت (ظرف مجهز به فیلتر با تهویه طبیعی و ظرف کاملاً بسته) مورد بررسی قرار گرفت. این ظروف شیشه ای از لحاظ اندازه کاملاً یکسان بوده و تنها تفاوت آنها در وجود یا عدم وجود فیلتر میکرونی بر روی درپوششان می باشد. آزمایش سوم به منظور مقایسه اثر ۴ ترکیب غذایی شامل MS کامل، B₅ کامل، نمک های MS با ویتامین های B₅ و نمک های B₅ با ویتامین های MS انجام شد. این محیط ها نیز محتوی، ۳٪ ساکارز، ۰/۷٪ آگار و ۰/۲۵ میلی گرم بر لیتر BAP بودند. قبل از

اضافه کردن آگار pH محیط بر روی ۵/۷ تنظیم شد و در دمای 121°C ، فشار ۱ اتمسفر، به مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید. کشت‌ها در دمای $25^{\circ}\text{C} \pm 1$ ، به مدت ۸ ساعت تاریکی، ۱۶ ساعت روشنایی، رطوبت ۴۶٪ و نور ۲۰۰۰ لوکس نگهداری شدند. در آزمایش چهارم تاثیر سه نوع هورمون IBA، NAA، 2,4-D بر کالوس‌زایی قطعات برگ مطالعه شدند. در این مرحله از برگ‌های تولید شده در شرایط درون شیشه‌ای به اندازه ۰/۵ سانتی‌متر مربع استفاده شد و جهت القا کالوس به محیط کالوس-زایی انتقال داده شدند. شرایط انکوباسیون مشابه مراحل قبلی بود. صفات اندازه‌گیری شده شامل تعداد برگ، طول ساقه، تعداد شاخه و درصد کالوس‌زایی بودند. هر کدام از آزمایشات فوق در قالب طرح کاملاً تصادفی و در حداقل سه تکرار انجام شدند سپس میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به آزمایش اول نشان داد که بین دو روش ضدعفونی از نظر شاخص‌های تعداد برگ، طول ساقه و تعداد شاخه اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد (نمودار ۱). به نظر می‌رسد که استفاده از زمان بیشتر هیپوکلریت سدیم جهت ضدعفونی، باعث صدمه به جوانه ریزنمونه‌ها و کاهش رشد آنها می‌شود. در آزمایش دوم نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس تعداد برگ و طول ساقه نشان داد بین دو نوع درپوش اختلاف معنی‌داری در سطح ۱٪ وجود دارد به طوری که گیاهچه‌های درون ظرف مجهز به فیلتر با تهویه طبیعی نسبت به گیاهچه‌های رشد یافته در ظرف کاملاً بسته رشد بهتری داشتند، ولی از نظر تعداد شاخه اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۲). نتایج حاصل از آزمایش سوم نیز نشان داد که نوع ترکیب غذایی (محیط پایه+ویتامین) بر روی رشد گیاهچه‌های گل کاغذی در شرایط درون شیشه‌ای موثر بود به طوری که تعداد برگ و طول ساقه در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری نشان داده اما از لحاظ تعداد شاخه اختلاف معنی‌دار ملاحظه نشد. مقایسه میانگین تعداد برگ و طول ساقه در بین محیط‌های پایه مختلف نشان داد که بیشترین (۱/۵۳۶) و کمترین (۱/۵۰۳) تعداد برگ به ترتیب در محیط MS کامل و B₅ کامل و طویل‌ترین (۱/۱۵۲cm) و کوتاه‌ترین (cm) (۰/۹۳۸۴) ساقه به ترتیب در محیط غذایی MS کامل و نمک‌های MS با ویتامین‌های B₅ مشاهده شد (نمودار ۳). نتایج تجزیه واریانس آزمایش چهارم نشان داد که بین هورمون‌های اکسین در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری وجود داشت. بالاترین (۱۰۰٪) و پایین‌ترین (۶۶/۶۰) درصد تولید کالوس به ترتیب در هورمون 2,4-D و NAA مشاهده شد ولی IBA و 2,4-D اختلاف معنی‌دار نداشتند (نمودار ۴). شاه و همکاران در سال ۲۰۰۶ تکثیر موفقیت‌آمیز گل کاغذی رقم *glabra mangifera* توسط نوک شاخه را گزارش نمودند. موخرجی در سال ۲۰۱۰ محیط‌های پایه MS، B₅، WPN و MS با ۱/۲ نیترات (MS-1) را بر روی رشد گره‌های انگور بررسی نمود و مشاهده کرد که MS-1 بیشترین شاخه را تولید کرد. سوسان در سال ۲۰۱۰ تاثیر محیط و ریزنمونه را بر کالوس‌زایی دو رقم زیتنی توت‌فرنگی بررسی کرد و نتیجه گرفت بیشترین تشکیل کالوس با ۰/۱ یا ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D بدست آمد و ۱۰۰٪ ریزنمونه‌های برگ کالوس تشکیل دادند. محمد در سال ۲۰۰۹ در ریزازدیادی سیب‌زمینی تاثیر ظرف تهویه‌دار و بدون تهویه را بر روی خصوصیات برگ بررسی کرد و مشاهده کرد میزان کلروفیل در کشت تهویه‌دار بیشتر بود. شامیرجهت بررسی کالوس‌زایی در *Beloperone plumbaginifolia* هورمون‌ها و ریزنمونه‌های مختلف را تست نمود و مشاهده نمود ترکیب IBA (۲/۴۵μM) و 2,4-D (۴/۵۲μM) بهترین ترکیب جهت کالوس‌زایی برگ بود.



منابع:

- Hammad, I. 2009. Genetic variation among *Bougainvillea glabra* cultivars (Nyctaginaceae) detected by RAPD markers and isozymes patterns. Research journal of agriculture and biological sciences, 5(1): 63-71.
- Mohamed, M.-H., Alsdon, A.A., 2009 Influence of ventilation and sucrose on growth and leaf anatomy of micropropagated potato plantlets. Sci. Hortic. doi:10.1016/j.scienta.2009.09.014.
- Mukherjee, P. Husain, N. Misra, S.C. and Rao, v.s. 2010. *In vitro* propagation of a grape rootstock, deGrasset (*Vitis champinii* Planch.): Effect of medium composition and plant growth regulators. Scientia horticulturae. 126:13-19
- Shah, S.T., Zamir, R., Muhammd, T. and Ali, H. 2006. Mass propagation of *Bougainvillea Spectabilis* through shoot tip culture. Pak. J. Bot, 38(4):953-959.
- Shameer, M.C., saeeda, V.P., madhusoodanan, P.V. and Benjamin, S. 2009. Direct organogenesis and somatic embryogenesis in *Beloperone plumbaginifolia* (Jacq.) Nees. Indian journal of biotechnology. 8:132-135
- Sutan, A.N. Popescu, A and Isac, V. 2010. *In vitro* culture medium and explant type effect on callogenesis and shoot regeneration in two genotypes of ornamental strawberry. Romanian biotechnological letters 15(2).12-18.

Evaluation of some factors affecting micropropagation of ornamental shrub***Bougainvillea glabra In Vitro***T. Tatory¹, M. Mousavi² and M. chehrazi²

1. MSc of Horticulture, Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran.

Assistant professor, Department of Horticultural Science, Shahid Chamran University, Ahvaz, Iran. 2.

Abstract

In this study some factors that affect micropropagation of *Bougainvillea* were tested. Nodal segment were used as explants. To evaluate of shoot production from nodal segment, three parameters were tested including: surface sterilization method, vessel type (vented or conventional vessel), type of basal medium including MS (basal salt mixture and vitamins), B₅ (basal salt mixture and vitamins), MS basal salts and B₅ vitamins, B₅ basal salts and MS vitamins. Also the effect of different auxins, 2,4-D, NAA and IBA on callus production of leaf explants were tested. Leaf number, stem length and branch number were measured for vessel and basal salt media experiments and percentage of callogenesis were measured in case of hormones experiment. The results appear that surface sterilization with sodium hypochlorite for 4 minutes compared to 5 minute was effective with minimum contamination. Also plantlets grown in vented vessel with natural ventilation (through micro filter) showed a high growth rate compared to plantlets grown in conventional vessels. Among media compositions tested the MS (basal salt mixture and vitamins), showed better results than other compositions. Also in this study we were observed that 0.1mg/l 2,4-D was more effective on callus induction from leaf explants compared to NAA and IBA.

Keywords: Micropropagation, *Bougainvillea*, vented vessel, callogenesis