اثر نوع ریزنمونه و تنظیم کننده های رشد گیاهی بر اندام زایی مستقیم زنبق مردابی بومی ایران (*Iris pseudacorus* Linn, Syn. *I. acoroides* Spach, *I. flava* Tornab.)

حمید رضا بیات (۱)، مرتضی خوشخوی (۲)، مصطفی عرب (۱) روح اله حیدری هایی (۱)

۱- گروه علوم باغبانی، پردیس کشاورزی ابوریحان، دانشگاه تهران، ۲- بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

بذر های زنبق مردابی پس از گندزدایی در محیط کشت پایه موراشیگی و اسگوگ (MS) بدون تنظیم کننده رشد کشت داده شدند. پس از گذشت هشت هفته قسمت های مختلف گیاه مادری از جمله برگ، ریشه های اولیه، ریشه های ثانویه و فاصله بین ریشه ها و پاهنگ (طوقه) به عنوان ریزنمونه به محیط کشت MS حاوی (۳۰ گرم در لیتر) سوکروز، (۲۵۰ میلی گرم در لیتر) ال-پرولین، (۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ میلی گرم در لیتر) ٦- بنزیل آمینوپورین (BAP) و (۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) ۲-٤ دی کلروفنوکسی استیک اسید (2,4-D) در غالب آزمایش فاکتوریل با طرح کامل تصادفی منتقل و در دمای ۲±۲۵ در جه سانتی گراد و نور کم ۳۵ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند. پس از گذشت ۲ هفته شاخساره های نابجا از ریزنمونه های پاهنگ در محیط حاوی ۳ میلی گرم در لیتر BAP بدون 2,4-D مشاهده شدند این در حالی بود که دیگر تیمارها بدون تغییر باقی ماندند و در محیط حاوی2,4-D شاخساره های بد شکل به وجود آمد.

مقدمه

زنبق بزرگترین جنس تیره Iridaceae است، که شامل بیش از ۳۰۰ گونه می باشد. زنبق مردابی (*Iris psudacorus*) از جمله گیاهان علفی چند ساله است که امروزه گونه های اهلی آن کاربرد زیادی دارد از جمله به عنوان گل های شاخه بریدنی، استفاده در فضای سبز و باغچه ها، حاشیه آب نماها، مرداب‌ها وحوضچه ها، کاهش بار میکروبی فاضلاب ها و نیز دارای خواص دارویی فراوانی می باشد. افزایش این گیاه از طریق تقسیم نیساگ (ساقه زیرزمینی) جهت تولید گیاه بالغ چند سال طول می کشد. بذرها بسیار هتروزیگوت و دارای خفتگی هستند. اما در کشت بافت زمان گیاه افزایی کوتاه می باشد و می‌توان پایه های عاری از ویروس تولید کرد. روش های کشت بافت و یاخته در زنبق رو به افزایش است، که در همه روش ها از یک پایه مادری با کیفیت بالا استفاده می شود (کامو و همکاران[1]، ۱۹۹۰).

مواد و روشها

در این پژوهش از بذرهای جمع آوری شده از کپسول های رسیده پایه مادری زنبق مردابی (*Iris psudacorus*) که در مازندران کشت و کار شده و در کلکسیون پردیس ابوریحان جمع آوری شده بودند، استفاده شد. بذر ها پس از خراش دهی با کاغذ سنباده جهت گندزدایی به مدت ۲۰ دقیقه در محلول NaOCl ۲٪ و چند قطره توئین ۲۰به منظور افزایش تماس ماده سترون کننده در یک بطری سرپوشیده غوطه ور و پس ازگندزدایی با آب مقطر سترون شستشو شدند. سپس بذرها به محیط کشت

[1]. Kamo *et al*.

MS (موراشیگی و اسکوگ[1]، ۱۹۶۲) بدون تنظیم کننده رشد منتقل و در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری شدند . پس از هشت هفته از برگ، ریشه های اولیه و ثانویه و پاهنگ (طوقه) گیاهچه های حاصل ریزنمونه های سترون تهیه و به محیط کشت MS شامل مواد معدنی و آلی محتوای ۳۰ گرم سوکروز، ۲۵۰ میلی گرم ال- پرولین، به همراه تنظیم کننده های رشد (۱، ۲، ۳، ٤ و ۵ میلی گرم) BAP و (۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر) 2.4-D در غالب آزمایش فاکتوریل در طرح کامل تصادفی منتقل شدند، pH محیط ها روی۵/۸ تنظیم شد و بعد از اضافه کردن ۷ گرم در لیتر آگارآگار در دمای ۱۲۱درجه سانتی گراد و فشار ۱/۲ کیلوگرم بر متر مربع به مدت۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. نمونه ها در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی گراد و نور کم ۳۵ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری شدند .

نتایج و بحث

پس از گذشت دو هفته شاخساره های نابجا از ریزنمونه های پاهنگ مشاهده شدند و در دیگر ریزنمونه ها تغییری بجز قهوه ای شدن و رشد بدشکل حاصل نشد. با این که کشت بافت در تک لپه ای ها به مراتب سخت تر از دو لپه ای ها می باشد (کامو و همکاران، ۱۹۹۰) اما باززایی به نوع اندام و میزان هورمون، سن اندام یا بافت وابسته است. برای مثال گل های نا بالغ بهترین نوع منبع ریزنمونه جهت باززایی در زنبق *I. ensata* بوده است (ایچیهاشی و کاتو[2]، ۱۹۸٦) . در این پژوهش بهترین شاخساره در محیط حاوی ۳ میلی گرم در لیتر BAP بدون 2,4-D مشاهده شد این در حالی بود که در دیگر غلظت ها ریزنمونه ها بدون تغییر باقی مانده بودند. در محیط حاوی2,4-D شاخساره های بد شکل به وجود آمده بود. گزارش شده است که سایتوکینین ها شاخه زایی را افزایش می دهند اما 2,4-D از شاخه زایی ممانعت می کند (بولتنکف و زارمبو[3]، ۲۰۰۵) که یافته های این پژوهش با نتایج آن ها همسان است .

منابع

Boltenkov, E. V. & Zarembo, E. V. 2005. In vitro regeneration and callogenesis in tissue culture of floral organs of the genus *Iris* (Iridaceae). Biol. Bull. 32:138-142

Ichihashi, S. & Kato, S. 1986. Clonal propagation of Iris kaempferi by means of flower organ culture. Bull. Aichi. Univ. Edu. 35:135–143.

Kamo, K. Chen, J. & Lawson, R. 1990. The establishment of cell suspension cultures of gladiolus that regenerate plants, in vitro cell development. Biol. Plant 26:425– 430.

Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiol.15:479-473.

Types and Plant Growth Regulator on Direct Organogenesis of Iranian Effects of Explant *Iris* (*Iris pseudacorus* Linn., Syn. *I. acoroides* Spach., *I. flava* Tornab.)

[2]. Murashige & Skoog

[1]. Ichihashi & Kato

Boltenkov & Zarembo.[2]

H. Bayat[1], M. Khosh-Khui[2], M. Arab[1], R. Heidarihaee[1]

1. Department of Horticultural Sciences, College of Abooraihan, University of Tehran, Tehran, Iran.
2. Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

tell:09360379639hbayat@ut.ac.irE-*mail*:

Abstarct

Sterilized *Iris pseudacorus* L. seeds were sown on growth regulator free Murashige and Skoog's (MS) basal medium, After 8 week, different explant types were excised from seedling such as a leaf, primery and secondary root and crown. The explants were transferred to a MS basal medium supplemented with 30 g L^{-1} sucrose, 250 mg L^{-1} L-prolin (1, 2, 3, 4 & 5) mg L^{-1} , 6-benzylaminopurine (BAP) and (0 & 0.5) mg L^{-1} 2, 4-dichiorophenoxyacetic acid (2, 4-D). All experiments performed in a factoriel completely randomized design (CRD). Cultures were incubated at 25±2°C under a 16-h photoperiod provided by cool-white fluorescent lamps at 35 µmolm^{-2} s^{-1}. After 2 weeks, the adventitious shoots were observed on crown explants on a medium containing 1.44 mgl^{-1} BAP without 2,4-D. While other treatments and explants did not show any proper results. Abnormal leaves were observed on media containing 2,4-D.

Keywords; Iris; tissue culture; shoot regeneration; 6-benzylaminopurine (BAP)