Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.3, Fall 2019, P. 405-415
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸، ص. ۴۱۵-۴۰۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

بهینه‌سازی تولید کالوس و باززایی درگیاه زینتی زامیفولیا (*Zamioculcas zamiifolia*)

مهناز صیادی نژاد[۱]- سید مصطفی صادقی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۴/۰۶
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۴/۱۹

چکیده

امروزه پرورش و تکثیر گیاهان زینتی به خصوص گیاهانی که تکثیر آنها به سختی صورت می‌گیرد، از طریق کشت بافت از ارزش و اهمیت زیادی برخوردار است. تکثیر گیاه زینتی زامیفولیا با ارزش اقتصادی بالا از طریق قلمه برگ و تقسیم ریزوم به سختی صورت می‌گیرد و به مدت زمانی حدود ۷ ماه نیاز دارد لذا جهت تسریع در تکثیر آن کشت بافت مفید واقع می‌گردد. جهت بهینه‌سازی تولید کالوس و باززایی، ریزنمونه‌های دمبرگ، ریزوم، برگ و شاخه، در محیط کشت‌های با سطوح متفاوت تنظیم کننده‌های رشد در دو آزمایش جداگانه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش اول ریزنمونه‌های دمبرگ و ریزوم در سه مرحله کالوس، شاخه و ریشه‌زایی به ترتیب در سطوح هورمونی [BA (۴، ۲، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)، 2,4-D (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)]، [BA (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و 2,4-D (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] و [BA (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] قرار گرفتند و در آزمایش دوم ریزنمونه‌های برگ و شاخه نیز در سه مرحله کالوس، شاخه و ریشه‌زایی به ترتیب در سطوح هورمونی [BA (۴، ۲، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] ، [BA (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] و[BA (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۲، ۱، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] قرار گرفتند. در مرحله کالوس‌زایی، صفات مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی و پس از گذشت ۵ هفته درصد کالوس‌زایی و وزن ترکالوس اندازه‌گیری گردید. در مرحله باززایی مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی، مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی و پس از گذشت ۵ هفته طول شاخه و تعداد برگ اندازه‌گیری گردید. بالاترین درصد کالوس‌زایی، کوتاهترین زمان برای رسیدن به کالوس و بیشترین وزن تر کالوس در محیط کشت با هورمون‌های ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریز نمونه برگ به ترتیب با ۹۴/۵ درصددرصد، ۱۴ روز و ۱/۱ گرم از آزمایش دوم مشاهده گردید. بهترین تیمار در مرحله شاخه‌زایی با کوتاهترین زمان تا شروع شاخه‌زایی، بلندترین طول شاخه و بیشترین تعداد برگ به ترتیب با ۱۰/۵ روز ، ۴/۱۰ سانتی متر و ۸ برگ مربوط به ریزنمونه برگ با غلظت هورمونی ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA از آزمایش دوم بود و در مرحله ریشه‌زایی بهترین تیمار برای ریزنمونه دمبرگ با غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA با ۱۴ روز زمان تا ریشه‌زایی از آزمایش اول بود. از نتایج آزمایش‌ها در مرحله باززایی چنین بر آمد که نوع ریزنمونه در شاخه‌زایی و ریشه‌زایی همانند مرحله کالوس‌زایی موثر بوده‌است به طوری که در مرحله شاخه‌زایی نتایج به دست آمده از ریزنمونه ریزوم نسبت به ریزنمونه دمبرگ بهتر بود اما در مرحله ریشه‌زایی ریزنمونه دمبرگ بهتر از ریزنمونه ریزوم عمل کرده است.

واژه‌های کلیدی: کشت بافت، ریزازدیادی، واکشت، BA

مقدمه

زامیفولیا یک گیاه زینتی و دارویی چند ساله از خانواده آراسه می‌باشد که از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین جنس‌های این خانواده است (۷ و ۱۸). زادگاه این گیاه همیشه سبز و کم توقع، شرق آفریقاست و به zz plant معروف است (۳ و ۸). ارتفاع معمول آن ۶۰- ۹۰ سانتی‌متر است. کم توقع بودن و رشد خوب گیاه در نور کم دلیل نگهداری این گیاه در آپارتمان است (۳، ۴ و ۹). زامیفولیا بدلیل دارا بودن شاخ و برگ زیبا با رنگ طبیعی سبز تیره و محدود بودن آفات و بیماری و رشد خوب در محیط کم نور، قابلیت تبدیل به یک گیاه زینتی آپارتمانی محبوب را دارد (۵ و ۱۰). تولید کنندگان در فلوریدا اولین کسانی بودند که در سال ۱۹۹۹ به تولید زامیفولیا در مقیاس وسیع دست زدند (۱ و ۶). از آن زمان به عنوان یک گیاه مهم برای طراحی داخلی و یک گیاه تزئینی برای جشن‌ها در نظر گرفتند (۴، ۱۳، ۱۵ و ۱۷). در طی سه سال از اولین معرفی، این گیاه تبدیل به گیاه بسیار محبوب گردید و توسط انجمن فلوریدا و انجمن تولید کنندگان، به عنوان "گیاه سال" در سال ۲۰۰۲ نامیده شد (۲ و ۱۶). روش سنتی تکثیر زامیفولیا به صورت تقسیم ریزوم و قلمه برگ انجام

۱ و ۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی واحدلاهیجان، لاهیجان، ایران
(*- نویسنده مسئول: Email: sadeghisafa777@yahoo.com)
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i3.73637

www.SID.ir

Archive of SID

می گیرد اما راندمان تولید با این روش پایین است چرا که گیاه کند رشد و برای تشکیل غده و ریشه به مدت زمان حدود ۷ ماه نیاز است علاوه بر این به دلیل نیاز محیطی گرم و مرطوب، تکثیر به فصل تابستان محدود می‌شود لذا کشت بافت بهترین راه برای تکثیر سریع و دستیابی به تعداد زیاد گیاه با ساختار ژنتیکی یکسان و همچنین حذف بیماری‌ها در کوتاه مدت بوده و کاهش هزینه‌ها و امکان برنامه ریزی از نظر زمان‌بندی برای تولید و تعداد را دارا می‌باشد. سنویراتن و همکاران (۱۴) آزمایشی را به منظور تسریع در ازدیاد گیاه زامیفولیا انجام دادند و انواع قلمه های رویشی را در محیط مایع (آب مقطر) و یک محیط جامد جدید با مواد مغذی، مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشاد داد که محل اتصال برگ به دمبرگ به عنوان بهترین نوع برش برای تکثیر سریع تشخیص داده شد و سوبسترای جامد برای ریشه‌زایی سریعتر از محیط مایع بود. کانتون و همکاران (۱۶) در تحقیقی از ریزنمونه برگ و دمبرگ گیاه جوان زامیفولیا برای کشت بافت استفاده کردند. محیط کشت پایه[1] ½ MS[1] به همراه ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BA[2] و ۴ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D[3] در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد در تاریکی را مناسب برای کالوس‌زایی تشخیص دادند. نیکوای (۱۰) در سه مرحله کشت بافت زامیفولیا از ریزنمونه‌های برگ و شاخه های ظریف گیاه استفاده کرد. مرحله اول به منظورالقای کالوس، محیط کشت شامل اجزای MS با هورمون های ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA[4] و در دمای ۲۶-۲۲ درجه سانتی‌گراد به میزان نور ۱۵۰۰-۱۲۰۰LX مناسب تشخیص داده شد و بعد ۱۵ روز کالوس تشکیل شد. در مرحله دوم محیط کشت مناسب برای جوانه‌زنی شامل اجزای MS به همراه ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵میلی‌گرم بر لیتر NAA تشخیص داده شد که بعد از ۳۰ روز، تعداد زیادی جوانه‌های تمایز یافته رشد کردند و در مرحله سوم محیط کشت مناسب برای ریشه‌زایی شامل اجزا ½ MS به همراه ۰/۱میلی‌گرم بر لیتر NAA بود. شی هپینگ و لیانگ (۱۵) در تحقیقی با بررسی سطوح مختلف تنظیم کننده‌ها، محیط کشت MS به همراه BA، 2,4-D و PVP[5] به ترتیب ۲، ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر را برای کالوس‌زایی و محیط کشت MS به همراه NAA و BA هر کدام به ترتیب ۰/۲ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر برای شاخه‌زایی و محیط کشت ½ MS به همراه NAA و BA به ترتیب ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر برای ریشه‌زایی گیاه زامیفولیا بهترین تیمار تشخیص دادند. پاپافتیو و همکاران (۱۱) با بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد در ریز ازدیادی گیاه زامیفولیا که از سطوح مختلف هورمون‌های 2,4-D و BA و NAA در محیط کشت MS استفاده کردند و بهترین نتیجه از BA و NAA برای رسیدن به گیاهچه کامل به ترتیب ۲/۶ و ۲/۲۲ میکرومول تعیین گردید. پان ژو و همکاران (۱۲) ریزنمونه‌ها را در محیط کشت جامد MS که حاوی NAA و یا BA در غلظت‌های (۰ ، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم بر لیتر) کشت دادند و گزارش کردند که بهترین روش برای القاءکالوس، حاوی ۰/۵میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA بوده است. با توجه به نوع بافت، مشخص شد که کالوس به وجود آمده از ریزنمونه دمبرگ به طور متوسط به اندازه ۱/۴۲ سانتی‌متر مربع است که بزرگتر از ریزنمونه برگ با اندازه متوسط ۰/۶ سانتی‌متر مربع بود. هدف از این مطالعه مقایسه ریزنمونه‌های مختلف از نظر کالوس‌زایی و باززایی در محیط کشت با سطوح مختلف هورمونی برای تولید و تکثیر سریعتر گیاه زامیفولیا می‌باشد.

مواد و روش‌ها

ضدعفونی ریزنمونه‌ها

در این مطالعه ریزنمونه‌های تهیه شده برای آزمایش اول شامل ریزوم و دمبرگ و ریزنمونه‌ها برای آزمایش دوم برگ و شاخه می‌باشد. برای ضدعفونی ابتدا ریزنمونه‌ها با آب معمولی شسته شدند سپس به طور جداگانه در محلول آب و چند قطره توئین به مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شدند. پس از آبکشی نمونه‌ها با آب مقطر، ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ به مدت ۳۰ ثانیه، ریزنمونه شاخه به مدت ۵۰ ثانیه و ریزنمونه ریزوم به مدت۶۰ ثانیه در اتانول ۷۰ درصد قرار گرفتند و پس از آبکشی سطحی مجدد با آب مقطر، ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ به مدت ۳ دقیقه، ریزنمونه شاخه به مدت ۵ دقیقه و ریزنمونه ریزوم به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد قرار داده شدند و پس از آبکشی سطحی سوم با آب مقطر، ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ به مدت ۲ دقیقه و ریزنمونه‌های شاخه و ریزوم به ترتیب به مدت ۳ و ۵ دقیقه به محلول هیپوکلریت سدیم ۳ درصد منتقل شده و در انتها پس از آبکشی با آب مقطر به ظرف حاوی آب مقطر استریل شده به مدت ۵ دقیقه منتقل شدند.

کشت ریزنمونه

ریزنمونه‌های ضدعفونی شده برای کشت در دو آزمایش جداگانه آماده شدند.

آزمایش اول: کالوس و باززایی ریزنمونه‌های ریزوم و دمبرگ

ریزنمونه‌های ریزوم و دمبرگ در سه تکرار در محیط کشت MS

1- Murashige and Skoog medium
2- Benzyl adenine
3- 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid
4- Naphthalene acetic acid
5- Polyvinyl pyrolidone

www.SID.ir

Archive of SID

½ در ترکیب با BA (۰، ۲، ۴ میلی‌گرم بر لیتر (و 2,4-D (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر (به همراه ویتامین‌ها شامل تیامین، نیکوتینک اسید، پیرودوکسین گلایسین و مایو اینستول و ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز، ۵ گرم در لیتر آگار و PH تنظیم شده برابر با ۵/۸ کشت شدند. ریزنمونه‌های کشت شده جهت کالوس‌زایی تحت شرایط دمایی ۲۷–۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. سپس جهت تمایز شاخه و ریشه، کالوس‌های ایجاد شده از ریزوم و دمبرگ در سه تکرار در محیط کشت ½MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و 2,4-D (۰، ۰/۵، ۱میلی‌گرم بر لیتر) برای شاخه‌زایی و پس از مشاهده جوانه‌های شاخه و برگ به محیط کشت ½MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۵، ۱میلی‌گرم بر لیتر) برای ریشه‌زایی انتقال یافتند.

آزمایش دوم: کالوس و باززایی ریزنمونه‌های برگ و شاخه

ریزنمونه‌های برگ و شاخه در محیط کشت MS ½ در ترکیب با BA (۰، ۲، ۴ میلی‌گرم بر لیتر (و NAA (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌گرم بر لیتر(به همراه ویتامین‌ها، ۳۰ گرم در لیتر ساکاروز، ۵ گرم در لیتر آگار و PH تنظیم شده برابر با ۵/۸ کشت شدند. ریزنمونه‌های کشت شده جهت کالوس‌زایی تحت شرایط دمایی ۲۷–۲۵ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. مدت زمان رسیدن به کالوس ثبت شد و پس از ۵ هفته درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس اندازه‌گیری گردید. سپس جهت تمایز شاخه و ریشه، کالوس‌های ایجاد شده از برگ و شاخه روی محیط کشت ½MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌گرم بر لیتر) برای شاخه‌زایی و پس از مشاهده جوانه‌های شاخه و برگ به محیط کشت ½MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) برای ریشه‌زایی انتقال داده شدند.

صفات ثبت شده در هر دو آزمایش در مرحله کالوس‌زایی شامل مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی، درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس و در مرحله باززایی شامل مدت زمان تا شاخه‌زایی، طول شاخه، تعداد برگ و همچنین مدت زمان تا ریشه‌زایی بود. صفات درصد کالوس‌زایی، وزن تر کالوس، طول و تعداد برگ پس از ۵ هفته انتقال به محیط کشت اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

آزمایش ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورها شامل ریزنمونه، تنظیم کننده‌های رشد اکسین و سایتوکنین بود. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های آماری با نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۲۲ و MSTAT-C مورد تجزیه آماری قرار گرفت. برای مقایسه میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۱ درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

آزمایش اول

درصد کالوس‌زایی

نتایج نشان داد که اثر ریزنمونه بر روی درصدکالوس‌زایی تأثیرگذار است. برهمکنش شدید فاکتورها در آزمایش نشان داد که بررسی تأثیر سطوح هورمون های اکسین و سایتوکنین به طور جداگانه بر کالوس‌زایی نمی‌تواند مفید واقع گردد لذا انتخاب بهترین برهمکنش برای ریز نمونه‌ها نتیجه مناسب‌تری را برای درصد کالوس‌زایی به همراه خواهد داشت. بهترین برهمکنش برای درصد کالوس‌زایی ریزنمونه ریزوم مربوط به تیمارهای هورمونی ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D با ۵۵ درصد کالوس‌زایی و کمترین درصد کالوس‌زایی در ریزنمونه دمبرگ با غلظت هورمونی ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D و ۰ میلی‌گرم بر لیتر BA با ۲/۵٪ مشاهده گردید که با افزایش BA درصد کالوس‌زایی در این ریزنمونه به ۴۴/۵ درصد درصد رسید (جدول ۱).

مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی

نتایج نشان داد که غلظت بالای سایتوکینین در هردو ریز نمونه ریزوم و دمبرگ سرعت کالزایی را افزایش می‌دهد. همانطور که مشاهده می‌شود افزایش هورمون BA در هر دو ریزنمونه ریزوم و دمبرگ در کاهش مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی نقش داشته و برهمکنش ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریزوم با ۱۸ روز و همچنین ۴ میلی‌گرم بر لیترBA و ۲ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه دمبرگ با ۱۸/۵ روز کوتاه‌ترین و در نتیجه بهترین تیمارها در سرعت کالزایی می‌باشند (جدول ۱).

وزن ترکالوس

بیشترین وزن کالوس در آزمایش اول مربوط به ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریزوم با ۱/۸۵۰ گرم بود در ریزنمونه دمبرگ ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و۲ میلی‌گرم 2,4-D با ۱/۳۵۰ گرم بیشترین وزن کالوس را نشان داد که می‌توان نتیجه گرفت بدلیل برهمکنش شدید بین سطوح هورمونی اکسین و سایتوکنین با ریزنمونه‌ها، سطوح متفاوت هورمونی در ریز نمونه‌های ریزوم و دمبرگ عکس‌العمل متفاوتی را برای وزن تر کالوس نشان داده‌اند (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی

نتایج بیانگر این موضوع که افزایش سرعت شاخه‌زایی نتیجه برهمکنش سطوح هورمون‌های سایتوکینین و اکسین در ریزنمونه‌ها است و توازن بین هورمون‌ها منجر به کاهش مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی خواهد بود و بررسی جداگانه روند هر یک از هورمون‌ها در ریزنمونه‌ها نمی‌تواند کارایی داشته باشد. مقایسه میانگین‌ها در آزمایش اول نشان داد که استفاده از هورمون 2,4-D به تنهایی مدت زمان تا شاخه‌زایی را افزایش می‌دهد بطوری‌که ریزنمونه ریزوم با ۲۹/۵ روز و ریزنمونه دمبرگ با ۲۸ روز بیشترین مدت زمان را برای رسیدن به شاخه‌زایی نشان دادند. کوتاه‌ترین زمان رسیدن به شاخه مربوط به تیمار ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریزوم با ۱۲ روز اختصاص یافت لذا تیمار مناسبی برای تسریع در باززایی بود (جدول ۱).

طول شاخه

نتایج باززایی برای طول شاخه نیز نشان داد که بدلیل برهمکنش شدید بین سطوح هورمون‌ها و ریز نمونه‌ها، بررسی روند هورمون‌ها به طور جداگانه نمی‌تواند کارایی لازم را برای رسیدن به حداکثر طول نوشاخه داشته باشد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بلندترین طول شاخه مربوط به تیمار ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریزوم با میانگین ۴/۱۰ سانتی‌متر می‌باشد و با تیمارهای ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه‌های ریزوم و دمبرگ اختلاف معنی‌داری را نشان نداد یعنی با کاهش سایتوکینین (BA) از ۴ به ۲ میلی‌گرم هم نتیجه مطلوب به دست آمد (جدول ۱).

تعداد برگ

تعداد برگ حاصل از ریزنمونه‌ها پس از گذشت ۵ هفته قرارگیری در محیط کشت نیز متأثر از برهمکنش بین فاکتورها بود و توازن بین سطوح هورمون‌های سایتوکینین و اکسین منجر به ایجاد حداکثر برگ در محیط کشت باززایی گردید. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین تعداد برگ مربوط به تیمار ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه ریزوم با میانگین تعداد ۵/۵ برگ است (جدول ۱).

مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی

برهمکنش شدید بین سطوح هورمونی و ریزنمونه‌ها بیانگر این موضوع است که بررسی جداگانه هورمون‌ها برای رسیدن به کوتاه ترین زمان تا ریشه‌زایی بی‌فایده است. داده‌های ثبت شده نشان می‌دهد که عدم حضور سایتوکنین باعث افزایش مدت زمان تا ریشه‌زایی می‌شود. کوتاه‌ترین زمان برای ریشه‌زایی پس از انتقال ریزنمونه‌های باززایی شده به همراه شاخه و حداقل دو برگ به محیط کشت ریشه‌زایی، مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه دمبرگ با مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی ۱۴ روز بود (جدول ۱).

آزمایش دوم

درصد کالوس‌زایی

برهمکنش فاکتورها همانند آزمایش اول نشان داد که بررسی تأثیر سطوح هورمون‌های اکسین و سایتوکنین به طور جداگانه بر کالوس‌زایی نمی‌تواند مفید واقع گردد لذا انتخاب بهترین برهمکنش برای ریز نمونه‌ها نتیجه مناسب‌تری را برای درصد کالوس‌زایی به همراه خواهد داشت. نتایج آزمایش نشان داد که برهمکنش ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه‌های برگ و شاخه به ترتیب با ۹۴/۵ درصد و ۷۹ درصد، بالاترین در صد کالوس‌زایی را به خود اختصاص داده‌اند که در مقایسه با ریزنمونه‌های دمبرگ و ریزوم در آزمایش اول از درصد کالوس‌زایی بیشتری برخوردار هستند. همچنین نتایج این آزمایش نشان داد که در مقدار ثابت BA افزایش غلظت NAA به طور معنی‌داری درصد کالوس‌زایی را افزایش می‌دهد (جدول ۲).

مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی

تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه‌های برگ و شاخه به ترتیب با ۱۴ و ۱۶/۵ روز، بهترین برهمکنش برای این صفت تشخیص داده شدند (جدول ۲). مقایسه دو آزمایش بیانگر سرعت کالزایی بیشتر ریزنمونه‌های برگ و شاخه نسبت به ریزنمونه‌های دمبرگ و ریزوم می‌باشد.

وزن ترکالوس

در آزمایش دوم نیز همانند آزمایش اول برهمکنش شدیدی بین سطوح هورمونی اکسین و سایتوکنین با ریزنمونه‌ها مشاهده گردید بطوری‌که سطوح متفاوت هورمونی در ریز نمونه‌های شاخه و برگ عکس‌العمل متفاوتی را برای وزن تر کالوس نشان دادند (جدول ۱). بیشترین وزن کالوس با غلظت هورمونی۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریز نمونه‌های شاخه و برگ به ترتیب با ۱/ ۶۵ و ۱/۱ گرم ثبت گردید (جدول ۲).

مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی

در آزمایش دوم، در سطوح هورمونی مشابه اکسین و سایتوکنین،

www.SID.ir

Archive of SID

ریزنمونه برگ قابلیت بیشتری را در کوتاه کردن زمان شاخه‌زایی نسبت به ریزنمونه شاخه از خود نشان داد (جدول ۱). بررسی برهمکنش‌ها نشان داد که تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه‌های برگ و شاخه به ترتیب با ۱۰/۵ و ۱۲/۵روز کوتاه‌ترین زمان رسیدن به شاخه‌زایی را دارا می باشند (جدول ۲).

طول شاخه

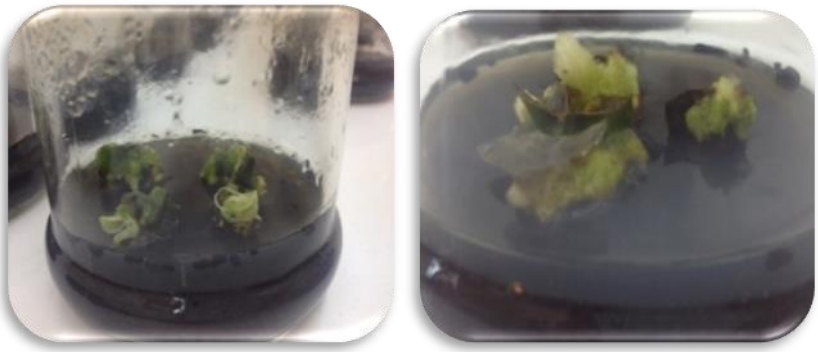
مقایسه میانگین‌ها در آزمایش دوم نشان داد که بلندترین طول شاخه مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ با میانگین ۴/۱۰ سانتی‌متر می‌باشد (جدول ۲).

تعداد برگ

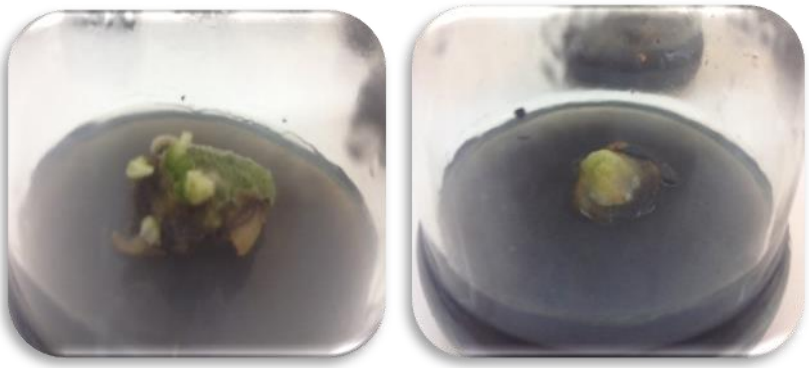
تعداد برگ حاصل از ریزنمونه‌ها پس از گذشت ۵ هفته قرارگیری در محیط کشت نیز همانند آزمایش اول متأثر از برهمکنش بین فاکتورها بود و توازن بین سطوح هورمون‌های سایتوکینین و اکسین منجر به ایجاد حداکثر برگ در محیط کشت باززایی گردید. بررسی برهمکنش‌ها بیشترین تعداد برگ را به تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ با میانگین تعداد ۸ برگ را نشان داد (جدول ۲). نتایج آزمایش بیانگر کاهش تعداد برگ در زمان استفاده از اکسین به تنهایی بود.

مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی

پس از انتقال ریزنمونه‌های باززایی شده به همراه شاخه و حداقل دو برگ به محیط کشت ریشه‌زایی، مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی محاسبه گردید. نتایج نشان داد که این زمان متأثر از برهمکنش بین فاکتورها بوده و توازن بین سطوح هورمون‌های سایتوکینین و اکسین منجر به کاهش زمان گردید. داده‌های ثبت شده نشان می‌دهد که عدم حضور سایتوکنین باعث افزایش مدت زمان تا ریشه‌زایی می‌شود. کوتاه‌ترین زمان تا ریشه‌زایی مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و برای ریزنمونه برگ با ۱۷/۵ روز بود (جدول ۲).



شکل ۱- کالوس ایجاد شده از دمبرگ گیاه زامیفولیا
Figure 1– Produced callus from the petioles of *Zamioculcas zamiifolia*



شکل ۲- کالوس ایجاد شده از ریزوم گیاه زامیفولیا
Figure 2– Produced callus from rhizomes of *Zamioculcas zamiifolia*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- مقایسه میانگین تأثیر ترکیبات مختلف BA, NAA و2,4-D بر برخی صفات تولید کالوس و باززایی شاخه از دو ریزنمونه ریزوم و دمبرگ گیاه زامیفولیا

Table 1- Mean comparison of the effect of BA, NAA and 2, 4-D combinations on some traits of callus production and shoot regeneration from rhizome and petiole explants of *Zamioculcas zamiifolia*

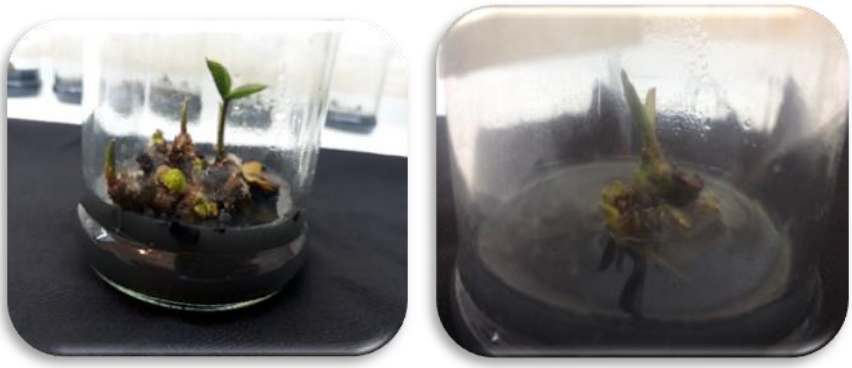
تیمار Treatment	صفات موردارزیابی Measured traits: درصدکالوس زایی Calogenesis Percentage (%)	مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی Time to start calogenesis (day)	وزن تر کالوس Fresh weight of callus (g)	مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی Time to start shootming (day)	طول شاخه Shoot length (cm)	تعداد برگ Number of leaves	مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی Time to start Rooting (day)
0 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))							
0 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))							
0 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	0.0^{g}	0.0^{g}	0.00 ^{g}	0.0 ^{h}	0.0 ^{f}	0.0 ^{f}	--
0 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	0.0 ^{g}	0.0^{g}	0.00 ^{g}	0.0 ^{h}	0.0^{f}	0.0 ^{f}	--
0 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	3.0 ^{f}	37.5^{a}	0.35^{f}	29.5 ^{a}	0.85 ^{d}	3.5 ^{c}	--
0 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	3.5 ^{f}	33.0^{c}	0.25 ^{f}	28.0^{a}	0.55 ^{e}	2.5 ^{d}	--
2 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	4.0 ^{f}	35.5^{b}	0.45^{ef}	25.5 ^{c}	1.00 ^{cd}	3.5^{c}	--
2 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	6.5 ^{e}	37.0^{a}	0.50^{e}	26.5 ^{c}	0.75 ^{d}	3.0 ^{c}	--
2 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	2.0 ^{f}	28.5^{d}	0.25^{f}	19.5^{d}	2.24 ^{c}	4.5 ^{b}	--
2 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	2.5 ^{f}	31.5^{c}	0.30 ^{f}	21.0^{d}	2.00 ^{c}	4.0 ^{b}	--
2 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	24.5 ^{d}	33.0^{c}	0.65 ^{e}	13.5 ^{f}	4.05 ^{a}	4.0 ^{b}	--
2 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	32.5 ^{c}	22.0^{e}	0.85 ^{d}	14.0 ^{f}	4.05 ^{a}	3.5 ^{c}	--
4 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	21.5 ^{d}	30.5^{cd}	1.60 ^{b}	17.0^{de}	2.45 ^{c}	2.5 ^{d}	--
4 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	31.5 ^{c}	25.5^{d}	1.35^{bc}	17.0^{de}	2.10 ^{c}	1.5 ^{e}	--
4 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	4.5 ^{f}	28.0^{d}	0.25^{bd}	15.5 ^{e}	3.20 ^{b}	4.0 ^{b}	--
4 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	5.5 ^{e}	30.5^{cd}	0.65 ^{e}	16.5^{e}	3.15 ^{b}	2.5 ^{d}	--
4 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + ریزوم rhizome))	55.0 ^{a}	18.0^{f}	1.85 ^{a}	12.0 ^{g}	4.10 ^{a}	5.5 ^{a}	--
4 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + دمبرگ petiole))	44.5 ^{b}	21.5^{e}	1.06 ^{c}	13.5 ^{f}	3.85 ^{b}	4.0 ^{b}	--
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	10.0^{df}	27.0^{d}	0.53 ^{e}	17.0 ^{de}	2.05 ^{c}	2.5 ^{d}	--
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ petiole))	22.0 ^{d}	18.5^{f}	0.75 ^{d}	15.5 ^{e}	2.10 ^{c}	1.0 ^{e}	--
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم rhizome))							
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ petiole))							
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	–	–	–	–	–	–	0.0 ^{g}
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + دمبرگ petiole))							
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم rhizome))							
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ petiole))							
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	--	--	--	--	--	--	0.0^{g}
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ petiole))	--	--	--	--	--	--	21.5^{c}
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	--	--	--	--	--	--	18.0^{d}
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + دمبرگ petiole))	--	--	--	--	--	--	23.0^{b}
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	--	--	--	--	--	--	21.0^{c}
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ petiole))	--	--	--	--	--	--	24.5^{b}
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	--	--	--	--	--	--	23.0^{b}
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ petiole))	--	--	--	--	--	--	15.5^{ef}
2 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم rhizome))	--	--	--	--	--	--	14.0^{f}
2 mg/l BA+1 mg/l NAA+ دمبرگ petiole))	--	--	--	--	--	--	24^{b}
	--	--	--	--	--	--	22.5^{bc}
	--	--	--	--	--	--	25.5^{ab}
	--	--	--	--	--	--	26.0^{a}
	--	--	--	--	--	--	16.5^{e}
	--	--	--	--	--	--	17.0^{e}
	--	--	--	--	--	--	21.^{c}
	--	--	--	--	--	--	19.5^{d}

میانگین‌های باحروف مشترک در هر ستون براساس آزمون چنددامنه ای دانکن از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different base on Duncan's multiple range test ($p<0.01$).

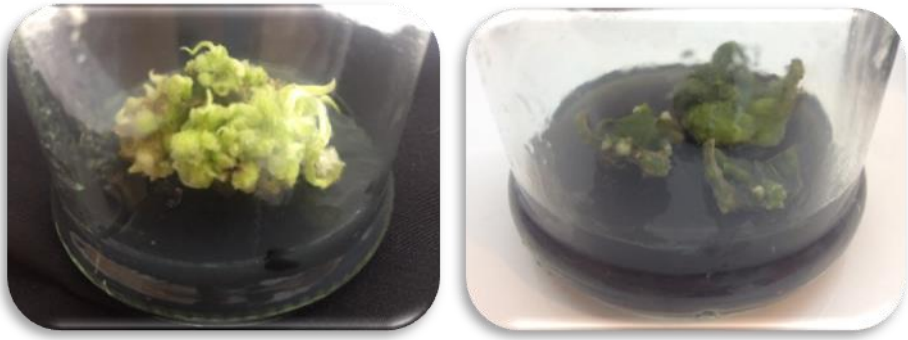
www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- باززایی شاخه از ریزوم گیاه زامیفولیا

Figure 3– Regenerated shoots from rhizomes of *Zamioculcas zamiifolia*



شکل ٤- کالوس ایجاد شده از برگ گیاه زامیفولیا

Figure 4– Produced callus from the leaves of *Zamioculcas zamiifoli*

شکل ٥- کالوس ایجاد شده از شاخه گیاه زامیفولیا

Figure 5– Produced callus from the shoot of *Zamioculcas zamiifoli*

شکل ٦- باززایی از برگ گیاه زامیفولیا

Figure 6– Regenerated shoots fromleaves of *Zamioculcas zamiifoli*

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین تاثیر ترکیبات مختلف BA و NAA بر برخی صفات تولید کالوس و باززایی از دو ریزنمونه برگ و شاخه گیاه زامیفولیا

Table 2- Mean comparison of the effect of BA and NAA in combinations on some traits of callus production and regeneration from leaf and shoot explants of *Zamioculcas zamiifolia*

تیمار Treatment	درصدکالوس Calogenesis percentage (%)	مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی Time to start calogenesis (day)	وزن ترکالوس Fresh weight of callus (g)	مدت زمان تا شروع شاخه‌زایی Time to start shooting (day)	طول شاخه Shoot length (cm)	تعداد برگ Number of leaves	مدت زمان تا شروع ریشه‌زایی Time to start rooting (day)
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + برگ(leaf)	0.0 h	0.0 f	0.0 f	0.0 h	0.0f	0.0 f	0.0g
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	0.0 h	0.0 f	0.0 f	0.0 h	0.0f	0.0 f	0.0 g
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	0.0 h	0.0 f	0.0 f	35.0 a	1.50de	3.5 e	--
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	0.0 h	0.0 f	0.0 f	37.0 a	1.35e	2.0 e	--
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	0.0 h	0.0 f	0.0f	24.5 c	1.75d	4.0 de	21.5 d
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + شاخه(shoot)	0.0 h	0.0 f	0.0 f	25.5c	1.65d	3.5 e	24.0 b
0 mg/l BA+2 mg/l NAA + برگ(leaf)	–	–	–	–	–	--	24.5ab
0 mg/l BA+2 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	–	–	--	24.0 b
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + برگ(leaf)	–	–	–	19.5 e	2.40 c	5.5 d	25.5 a
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	21.0 d	1.95d	3.5e	25.5 a
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	–	–	–	17.5d	2.65 c	7.5 b	--
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	17.0 f	2.50 c	5.5d	--
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	--	--	--	20.5de	1.85 d	7.0 b	19.5 e
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	21.5 d	1.70 d	4.5 de	19.5 e
1 mg/l BA+2 mg/l NAA + برگ(leaf)	–	–	–	–	–	--	21.0 d
1 mg/l BA+2 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	15.5 f	–	--	22.5 c
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + برگ(leaf)	5.5 f	18.0c	0.33 e	16.5 f	3.20b	6.5 c	24.5ab
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	4.0 f	27.0 b	0.27 e	10.5h	3.15b	6.5c	25.0a
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	53.5 d	19.0 c	0.82 d	12.5g	4.10 a	8.0a	--
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	73.5 b	26.0b	0.94 d	13.5 g	3.25 b	7.5 b	--
2 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	94.5 a	14.0 e	1.10 b	15.5 f	4.00 a	6.5 c	17.5 f
2 mg/l BA+1 mg/l NAA + شاخه(shoot)	79.0 b	16.5 d	1.65 a	–	2.60 c	6.5 c	19.0e
2 mg/l BA+2 mg/l NAA + برگ(leaf)	–	–	–	–	–	–	22.0c
2 mg/l BA+2 mg/l NAA + شاخه(shoot)	–	–	–	–	–	–	23.0 c
4 mg/l BA+0 mg/l NAA + برگ(leaf)	2.5 g	21.5bc	0.36 e	–	–	–	--
4 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	1.5 g	27.5 b	0.45 e	–	–	–	--
4 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	30.0 e	29.0a	0.92 d	–	–	–	--
4 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	46.5 e	29.5 a	1.02c	--	–	–	--
4 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	66.5 c	28.0 ab	1.09 c	--	--	--	--
4 mg/l BA+1 mg/l NAA + شاخه(shoot)	44.5 e	26.0 b	0.97 d		–	–	--

میانگین‌های باحروف مشترک در هر ستون براساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Means with similar letters in each column are not significantly different base on Duncan's multiple range test ($p<0.01$)

در این تحقیق ریزنمونه‌های دمبرگ و ریزوم در محیط‌های کشت حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی BA و 2,4-D بعد از ۱۸ روز و ریزنمونه‌های برگ و شاخه در محیط‌های کشت حاوی تنظیم کننده های رشد گیاهی BA و NAA بعد از گذشت ۱۴ روز به القای کالوس واکنش نشان دادند. به طور کلی کنترل فرایند کالوس‌زایی بستگی به حضور اکسین و سایتوکنین داشته و توازون بین آن‌ها تولید کالوس را سبب می‌شود. رشد کالوس در یک گونه گیاهی براساس نوع ریزنمونه متفاوت بوده است. در هر دو آزمایش مربوط به کالوس‌زایی در هر چهار ریزنمونه القای کالوس مشاهده گردید که القای کالوس در آزمایش اول در ریزنمونه ریزوم و در آزمایش دوم در ریزنمونه برگ به مراتب بیشتر بوده است. بطور کلی بین تمام تیمارها، ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA به همراه ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریز نمونه برگ بالاترین درصد کالوس‌زایی را به همراه کوتاه‌ترین زمان تا رسیدن به کالوس دارا بود. ونیزکانتون و همکاران (۱۵) ریزنمونه‌های

www.SID.ir

Archive of SID

برگ و دمبرگ را روی محیط کشت MS ½ حاوی تنظیم کننده‌های رشد با ترکیب ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۴ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در تاریکی و در دمای ۲۷–۲۵ درجه سانتی‌گراد بهترین کشت اعلام کردند و ۵–۴ هفته بعد از کشت، کالوس مشاهده گردید. اما در این تحقیق با بررسی هورمون 2,4-D مشاهده گردید که با افزایش غلظت 2,4-D با مشکل اندام‌زایی نافرم و نابجا در مرحله کالوس‌زایی مواجه می‌شویم که باعث کاهش درصد کالوس‌زایی می‌گردد. گو لیوهونگ و همکاران (۵) در مؤسسه تحقیقاتی و بیوتکنولوژی هایکو روی کشت بافت گیاه زامیفولیا تحقیقی را انجام دادند. با بررسی سطوح مختلف از هورمون‌هایBA, NAA, 2,4-D تعیین گردید که محیط کشت MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA برای کالوس‌زایی مناسب‌ترین تیمار است. در این تحقیق نیز از نتایج چنان برآمد که این ترکیب هورمونی برای ریزنمونه برگ در محیط کشت MS ½ بالاترین درصد کالوس‌زایی را داشته است. ژو چون لی و همکاران (۱۷) و لوپز و همکاران (۹) ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم BA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم NAA در ریز نمونه برگ را بهترین شرایط برای اندازه کالوس دانست. ریزنمونه‌های دمبرگ و ریزوم در محیط‌های کشت حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی BA و 2,4-D و ریزنمونه‌های برگ و شاخه در محیط‌های کشت حاوی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی BA و NAAبعد از گذشت ۱۰ روز نسبت به اندام‌زایی و تولید شاخه و برگ واکنش نشان دادند. نتایج نشان داد که جهت شاخه‌زایی حضور اکسین و سایتوکنین و توازون بین آن‌ها تولید برگ و شاخه را سبب می‌شود. به طوری‌که از نتایج چنین برآمد که برهم خوردن این تعادل باعث کاهش کمی و کیفی برگ و شاخه می‌گردد. زو جون هو و همکاران (۱۸) بهترین محیط کشت را برای کالوس‌زایی، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های دمبرگ و برگ، محیط کشت MS½ حاوی تنظیم کننده‌های رشد با ترکیب هورمونی به ترتیب ۳ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA، ۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA تشخیص دادند در حالی‌که در تحقیق حاضر تیمار ۴ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیترD-2,4 برای ریزنمونه دمبرگ و تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه برگ برای شاخه‌زایی و تیمارهای ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه دمبرگ و تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ برای ریشه‌زایی تشخیص داده شد. لین وی و همکاران (۷) در ریز نمونه برگ محیط کشت MSبا تنظیم کننده‌های ۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA را برای شاخه‌زایی و محیط کشتMS به همراه تنظیم کننده‌های ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۳ میلی‌گرم بر لیتر NAA را برای ریشه‌زایی مناسب تشخیص دادند.

نتیجه‌گیری

با توجه به اینکه تکثیر گیاه ارزشمند زینتی زامیفولیا به روش سنتی از طریق قلمه و ریزوم صرفه اقتصادی ندارد، روش کشت بافت به دلیل تکثیر سریع، یکنواخت و به تعداد زیاد می‌تواند جایگزین مناسبی باشد لذا در مطالعه حاضر به منظور بهینه‌سازی کشت بافت عوامل ریزنمونه و غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد، مورد بررسی و تأثیر بارز آن در واکنش به القای کالوس و باززایی در گیاه زامیفولیا مشاهده گردید. در کل برای کالوس‌زایی تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ و در مرحله باززایی برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی، به ترتیب تیمارهای ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه دمبرگ مناسب تشخیص داده شد.

منابع

1- Bejoy M., Sumitha V., and Anish N.P. 2008. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort.cv.Agnihothri. Biotechnology 71 (1): 134-138.
2- Chen J., Henny R.J., and McConnell D.B. 2002. Development of new foliage plant cultivars. In: J.J. Janik and A. Whipkey (Eds), Trends in New Crops and New Uses, ASHS Press, Alexandria, Pp. 466-472.
3- Chen J.J., and Henny R.J. 2003. ZZ: A unique tropical ornamental foliage plant. HortTechnology 13 (3): 458-462.
4- Feng C.T., Ho W.C., and Chao Y.C. 2006. Basal petiole rot and plant kill of *Zamioculcas zamiifolia* caused by *Phytophthora nicotianae*. Plant Disease 90: 1107-1109.
5- GU L., Yang B., Zhang S., and Yang X. 2006.Tissue culture of *Zamioculcas zamiifolia* (loddiges) angler. Chinese Journal of Tropical Agriculture 32: 19-25.
6- Harrison M. 2009. The Incredible ZZ plant (*Zamioculcas zamiifolia*). Available from www.davesgarden.com. Accessed on 14 August 2012.
7- Lin W., Tao J., Li Q., Li W., and Huang L. 2005. Study on Rapid Propagation Techniques of *Zamioculcas zamiifolia*. Chinese Agricultural Science Bulletin 44: 86-93.
8- Lopez R.G., Blanchard M.G. 2007. ZZ plant is an excellent choice for tough indoor use - *Zamioculcas zamiifolia*

www.SID.ir

Archive of SID

survive most interior environments. Greenhouse Management and Production 27:50-56.
9- Lopez R.G., Blanchard M.G., and Runkle E.S. 2009. Propagation and production of *Zamioculcas zamiifolia*. Acta Horticulturae 813: 559−564.
10- Ni K. 2015. *Zamioculcas zamiifolia* plant tissue culture method. Anhui Agricultural Science Bulletin 10(6): 56-63.
11- Papafotiou M., and Martini A. 2009. Effect of position and orientation of leaflet explants with respect to plant growth regulators on micro propagation of *Zamioculcas zamiifolia* Engl. (ZZ). Scientia Horticulturae 120: 115-120.
12- Pan X.F., Wang J.H., and Fu Q.M. 2007. Study on Rapid Vitro Propagation of *Zamioculcas Zamiifolia*. Natural Science Journal of Hainan University 23: 105-113.
13- Reid M.S., and Cevallos J.C. 2009. Postharvest biology and technology for new floricultural crops. Acta Horticulture 813: 209-216.
14- Seneviratne K.A.C.N., Daundasekera W.A.M., and Kulasooriya S.A. 2013. Development of rapid propagation methods and a miniature plant for export-oriented foliage, *Zamioculcas zamiifolia*. Ceylon Journal of Science (Bio Sci) 42(1): 55-62.
15- Shi H., and Liang P. 2003. Plantlet Regeneration from Leaf Explants of *Zamioculcas zamiifolia*. Acta Horticulturae Sinica 115: 131-139.
16- Vanize-canton S.D., and Leonhardt K.W. 2009. In vitro callus induction and plantlet regeneration protocol developed for the oryzalin treatment of *Zamioculcas zamiifolia*. Acta Horticulturae 813(26): 201-208.
17- Xue C.L., Guo J.M., Chen Y.J., and Quan S.Z. 2010. Study on Differentiation and Induction Callus and Embryoid from the Leaves of *Zamioculcas zamiifolia* Rehd. Modern Agricultural Science and Technology 45: 25-33.
18- Zhou J.H., Zhou Y., Liu X.M., Zhu Z.P., Deng B.G., and Luo N.S. 2005. In vitro Culture and Rapid Propagation of *Zamioculcas zamifolia*. Acta Agriculturae Jiangxi 89: 28-36

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.3, Fall 2019, P. 405-415
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۸، ص. ۴۱۵-۴۰۵
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Optimization of Callus Production and Regeneration of Zamiifolia (*Zamioculcas zamiifolia*)

M. Sayadi Nejad[1]- S.M. Sadeghi[2*]

Received: 27-06-2018
Accepted: 10-07-2019

Introduction: Zamiifolia is a perennial ornamental plant and is one of the most important medicinal plants of the Aracea family. The origin of this evergreen, low-anticipated plant is East Africa. *Zamiifolia* spreads through the leaves and split rhizomes, which is very time-consuming. The traditional Zamiifolia proliferation method have been done by dividing rhizomes and leaf cuttings, but the production efficiency is low due to the slow growth of the plant, tubers and roots. In addition, due to the warm and humid environment, reproduction is limited to summer season. Due to the traditional reproductive problems in this plant, tissue culture or microbial culture is the best way to replicate rapidly and to achieve a large number of plants with the same genetic structure, as well as the elimination of diseases in the short term and reducing the costs. The aim of this study was to compare different microorganisms in terms of calogenesis and regeneration, as well as to determine the optimum culture medium for Zamiifolia tissue culture.

Materials and Methods: In this study, the explants prepared for the first experiment, including rhizome and petiole and the explants for the second experiment were the leaeaves and shoots. In the first experiment, rhizome and petiole were cultured in three replications in ½ MS medium containing BA (0, 2, 4 mg / L) and 2,4-D (0,1,2 mg / L) in combination with vitamins, 30 g/l sucrose, 5 g / L agar and adjusted to 5.8 PH. The cultivars were cultured for the callus induction under temperature of 27-25 ° C and light conditions of 16 hours light and 8 hours darkness. After 5 weeks, the percentage of callus and fresh callus weight were measured. The callus generated from rhizome and petiole in three replicates on ½ MS medium containing BA (0, 1, 2 mg / L) and 2,4-D (0, 0.5, 1 mg / l) for shoots and after the observation of branches and leaf buds were grafted on to ½ MS medium containing BA (0, 1, 2 mg / L) and NAA (0, 0.5, 1 mg / L) for rooting. Traits such as time to shoot elongation were recorded at regeneration stage, and after 5 weeks, shoot length and the number of leaves were measured. The time to rootstock was also recorded. In the second experiment leaf and shoot explants were cultured in ½ MS medium containing BA (0, 2, 4 mg / l) and NAA (0, 0.5, 1 mg / L) in combination with vitamins, 30 g/l sucrose, 5 g / L agar and PH adjusted to 5.8. The cultivars were cultured for the callus induction under temperature 27-25 °C and light conditions of 16 hours light and 8 hours darkness. The time to reach the callus was recorded and after 5 weeks, the percentage of callus and fresh callus weight were measured. The calli generated from the leaves and shoots were cultures on ½ MS medium containing BA (0, 1, 2 m g / L) and NAA (0, 0.5, 1 mg / L) for shoots and after observation of branch and leaves were transplanted to the ½ MS medium containing BA (0, 1, 2 mg / L) and NAA (0, 1, 2 mg /L) for rooting. The traits such as time to shoot elongation were recorded at the regeneration stage, After 5 weeks, the shoot length and the number of leaves were measured.The time to rootstock was also recorded.

Results and Discussion: The results of the first experiment showed that the effect of the rhizome and petiole type on the callus formation was significant at 1% level. So that the rhizome showed greater ability to callogenesis. The results of the second experiment showed that the effect of the type leaf and shoot on the callus formation was significant at 1% level. So that the leaf showed greater ability to callogenesis. The highest percentage of callosing (94.5%), the shortest time to reach the callus (14 days) and the highest callus weight (1.1 g) in culture medium with 2 mg / l BA and 1 mg / l hormones NAA was observed in leaf samples from the second experiment. The best treatment in the shoot elongation stage, which included the shortest time to shoot formation (10.5 days), the longest shoot length (4.10 cm), and the highest leaf number (8 leaves) in the leaf extract with hormonal concentrations of 2 mg / 0 mg / L NAA was observed from the second experiment. In the rooting stage, the best treatment for petiole extracts with hormonal concentrations was 1 mg / l BA and 0.5 mg / l NAA with 14 days to rooting from the first experiment.

Conclusion: In this study, explants and various concentrations of growth regulators had significant effect on the response to callus induction in Zamiifolia. In the first experiment, the rhizome and in the second experiment the leaf showed a better reaction to callus induction. According to this research, it can be suggested that the treatments applied in both experiments should be applied on all four leaves, petiole, rhizome and shoot samples, and the best culture type and the best culture medium for the cultivation of Zamiifolia plant tissue should be determined in subsequent studies.

Keywords: BA, Micro propagation, Sub culture, Tissue culture

1 and 2- M.Sc. Student and Associate Professor, Department of Agricultural Biotechnology, Lahijan Branch, Islamic Azad University, Lahijan, Iran
(*- Corresponding Author Email: Sadeghisafa777@yahoo.com)

www.SID.ir