Archive of SID

فصلنامهٔ علمی پژوهش و توسعه جنگل
جلد ۶، شماره ۴، صفحه ۵۹۱-۵۷۳، (۱۳۹۹)

اثر تنظیم‌کننده‌های رشدی گیاهی در ریزازدیادی آردوج (*Juniperus foetidissima* Willd.)

ایوب فتح‌اللهی قره‌چبوق[۱]، احمد علیجانپور*[۲]، بهمن حسینی[۳] و عباس بانج شفیعی[٤]

۱- دانشجوی دکتری جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (ayoubfg@yahoo.com)
۲- دانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (a.alijanpour@urmia.ac.ir)
۳- دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (b.hosseini@urmia.ac.ir)
٤- دانشیار، گروه جنگلداری، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران. (a.banjshafiei@urmia.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۸/۰۳/۰۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۰۳/۲٤

چکیده

این پژوهش با هدف بهینه‌سازی تکثیر درون شیشه آردوج تحت تیمارهای مختلف پرآوری و ریشه‌زایی انجام شد. نمونه‌های گیاهی مورد نیاز از شاخه‌های یک‌ساله سالم و جوان پایه‌های این‌گونه از جنگل‌های ارسباران جمع‌آوری شدند. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا و داده‌ها با استفاده از آزمون تجزیه واریانس دوطرفه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. برای باززایی مستقیم از تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی BAP، KIN و TDZ در چهار سطح (صفر، ۱، ۳، ۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت مجزا و یا در ترکیب با IAA در سه سطح (صفر، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. همچنین برای بررسی ریشه‌زایی در آردوج، شاخساره‌هایی با ارتفاع بیش از یک سانتی‌متر، در محیط‌های کشت پایه OM، MS، DKW، WPM، ۱/۲ MS و ۱/٤ MS حاوی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. در این بررسی شاخص‌های پاسخ به کشت بافت از قبیل درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره، طول شاخساره و درصد ریشه‌زایی بررسی شد. در بین تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، بیشینه تولید شاخساره (۳/۸۲، ۲/۷۸ و ۱/٦۷ شاخساره در هر ریزنمونه) به‌ترتیب در محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA، ۳ میلی‌گرم در لیتر کینتین (KIN) و ۳ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورون (TDZ) به‌دست آمد.

واژه‌های کلیدی: آردوج، تنظیم‌کننده رشد گیاهی، ریزازدیادی، ریشه‌زایی.

* نویسنده مسئول شمارهٔ تماس: ۰٤٤۳۲۷۷۰٤۸۹

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

جنس ارس با داشتن شش گونه بیشترین تنوع را در بین سوزنی‌برگان ایران دارد که از بین آن‌ها گونه ارس یا سرو کوهی (*Juniperus excelsa* M.Bieb.) پراکنش وسیع‌تری نسبت به دیگر سوزنی‌برگان دارد (Khoushnevis *et al*., 2008، Pirani *et al*., 2011). گونه‌های مختلف ارس در ایران از ارتفاع ۷۵۰ تا ۳۴۰۰ متر گسترش داشته (Ahani *et al*., 2013) و در برابر سرمای شدید، یخبندان و خشکی هوا مقاوم هستند (Darroudi *et al*., 2014). توده‌های آردوج (*Juniperus foetidissima* Willd.) عموماً مسن هستند و کهن‌سال‌ترین درخت آردوج در ارسباران به ارتفاع نه متر و قطر برابر سینه ۳۲/۵ سانتی‌متر، ۱۵۵ سال سن دارد (Asri and Partonia, 2017). این گونه یکی از عناصر بازمانده، نادر و ارزشمندی است که در ترکیب و تنوع عناصر رویشی جنگل‌های ارسباران می‌تواند جایگاه بسیار ویژه‌ای داشته باشد (Sarhangzadeh, 2019) تکثیر پایه‌های جنس ارس از طریق بذر و به‌صورت جنسی محدود و مشکل است (Ahani *et al*., 2013). در ایران چرخه تولید بذر ارس معمولاً چهار تا هشت سال است (Khoushnevis *et al*., 2000). عواملی مانند گرده‌افشانی ضعیف، مخروط‌های آلوده به آفت و درصد کم زنده‌مانی و رشد بذرها (Al-Ramamneh *et al*., 2017)، دوره طولانی نهفتگی در بذرها، زیاد بودن مقدار بذرهای پوک و مرده، سبب کم شدن درصد جوانه‌زنی در بذر گونه‌های مختلف ارس می‌شوند؛ بنابراین در تولید انبوه نهال‌های این‌گونه، تکثیر رویشی و غیرجنسی آن اهمیت ویژه‌ای دارند (Aayan *et al*., 2004). به‌دلیل دوپایه بودن این گونه تکثیر پایه‌های نر نخبه آن فقط از طریق غیرجنسی امکان‌پذیر است (Ali-Ahmad Korori and Khoshnevis, 2000). روش کشت بافت یک روش بنیادی در تکثیر و اصلاح نژاد گیاهان مهم باغی، تجاری، دارویی و جنگلی محسوب شده و از مزایای این روش تکثیر تعداد زیاد گیاه در یک بازه زمانی کوتاه است. پرآوری شاخساره و افزونگری آن در محیط کشت بافت گیاهی، بیشتر تحت تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند سیتوکینین و اکسین در محیط کشت است. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی سیتوکینینی از قبیل BAP (6-benzylamino purine) و KIN (Kinetin) در ترکیب با غلظت‌های خیلی کم از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اکسینی از قبیل IAA (Indole-3-acetic acid) و NAA (Naphthalene acetic acid) برای شاخساره‌زایی تعداد بی‌شماری از گیاهان استفاده می‌شود (Bagheri and Saffari, 1997). ولی نسبت مناسب اکسین به سیتوکنین به نوع گونه و ریزنمونه بستگی دارد (Bagheri and Saffari, 1997). در این ارتباط Rifaki (2009) با باززایی گونه *J. excelsa*، به این نتیجه رسید که مؤثرترین سیتوکنین در تشکیل شاخه‌ها در WPM (Wood plant medium)، 2iP (6-(γ, γ-Dimethylallylamino) purin) در غلظت‌های ۲ و ۱۰ میکرومولار (به‌ترتیب ۶۶/۷ و ۸۶/۷ درصد) و KIN با غلظت ۲ میکرومولار (۷۳/۳ درصد) بود. Castro and Belo (2011) با بررسی ریزازدیادی گونه *J. navicularis* به این نتیجه رسیدند که محیط کشت OM (Rugini Olive medium) و GD (Gapta and Durzan, 1985) هر دو حاوی ۰/۴۵ میکرومولار BAP بیشترین شاخه‌زایی را داشتند. Asrarzade و همکاران (2012) ریزازدیادی سه گونه از جنس ارس (*J. excelsa, J. horizontalis, J.chinensis*) را در محیط کشت MS (Murashige and Skoog medium)، WPM و N6 (Chu medium) با غلظت‌های متفاوتی از IAA، IBA (indole-3-butyric acid) و 2,4-D (2,4-

www.SID.ir

Archive of SID

dichlorophenoxy acetic) در ترکیب با BAP بررسی کردند. بیشترین تعداد شاخه‌ها در محیط کشت WPM با ۰/۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌دست آمد. Al-Ramamneh و همکاران (2017) با بررسی اثر نوع ریزنمونه، محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در باززایی گونه *J. phoenicea* به این نتیجه رسیدند که تعداد شاخه‌ها در محیط‌های OM، ۱/۲OM و ۱/۲MS در ریزنمونه‌های ۱/۵ سانتی‌متر، رشد طولی بیشتری نسبت به ریزنمونه‌های ۰/۵ سانتی‌متری بعد از ٦۰ روز داشته است و OM حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر DM (Daminozaide) بیشترین نرخ کالوس‌دهی را دارد. با توجه به اهمیت و جایگاه گونه آردوج در منطقه ارسباران و همچنین مشکلات زادآوری و تجدید حیات طبیعی آن، تکثیر رویشی این‌گونه از طریق کشت بافت اهمیت ویژه‌ای دارد. بنابراین هدف این پژوهش، کاربرد تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مختلف برای تکثیر آردوج در شرایط درون شیشه‌ای و تولید انبوه آن در مدت زمان اندک است.

مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی مورد نیاز از درختچه‌های موجود در رویشگاه اصلی گونه آردوج در استان آذربایجان شرقی، شهرستان خداآفرین، منطقه تاتار جمع‌آوری شد. بدین منظور از شاخه‌های یک‌ساله سالم و جوان گیاه که فاقد علائم بیماری و کمبود باشند، نمونه-برداری انجام شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و برای ضدعفونی سطحی، ریزنمونه‌های نوک شاخساره در حدود یک ساعت در آب جاری خیسانده شدند. سپس ریزنمونه‌ها به‌ترتیب به‌مدت ۱۵ دقیقه در قارچ‌کش بنومیل ppm ۲، یک دقیقه در اتانول ۷۰ درصد و در مرحله آخر به‌مدت پنج الی هفت دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم (۵ درصد کلر فعال) نگهداری و با آب مقطر استریل سه بار شستشو شدند. کلیه مراحل ضدعفونی سطحی در داخل آزمایشگاه بهینه‌سازی شد. پس از پایان ضدعفونی، ریزنمونه‌ها به قطعات کوچک‌تر برش و به محیط کشت پایه MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ٦ گرم در لیتر آگار برای استقرار ریزنمونه منتقل شدند. برای بررسی اثر ترکیبات مختلف بر شاخص‌های باززایی و پرآوری آردوج ریز-نمونه‌های مستقرشده در محیط کشت، تحت تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینینی و اکسینی در غلظت-های مختلف قرار گرفتند. شاخص‌های درصد زنده-مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره و طول شاخساره در این بررسی اندازه‌گیری شدند.

شاخص‌های آزمایشی به‌صورت جداگانه و به قرار زیر طراحی و اجرا شد:

آزمایش اول- ترکیب تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP در چهار سطح (صفر، ۱، ۳، ۵ میلی‌گرم در لیتر) با تنظیم‌کننده رشدگیاهی IAA در ۳ سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر).

آزمایش دوم- ترکیب تنظیم‌کننده رشد گیاهی KIN در چهار سطح (صفر، ۱، ۳، ۵ میلی‌گرم در لیتر با تنظیم‌کننده رشدگیاهی IAA در ۳ سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر).

آزمایش سوم- ترکیب تنظیم‌کننده رشدگیاهی TDZ در چهار سطح (صفر، ۱، ۳، ۵ میلی گرم‌در لیتر با تنظیم‌کننده رشدگیاهی IAA در ۳ سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) (جدول ۱).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مورد استفاده برای باززایی و پرآوری آردوج در محیط کشت پایه MS

Table 1. Plant growth regulators which used to evaluate regeneration and propagation of *Juniperus foetidissima* Willd. in MS basal media

IAA	TDZ	محیط کشت Basal media	IAA	KIN	محیط کشت Basal media	IAA	BAP	محیط کشت Basal media
0	0	SMT1	0	0	SMK1	0	0	SMB1
0	1	SMT2	0	1	SMK2	0	1	SMB2
0	3	SMT3	0	3	SMK3	0	3	SMB3
0	5	SMT4	0	5	SMK4	0	5	SMB4
0.1	0	SMT5	0.1	0	SMK5	0.1	0	SMB5
0.1	1	SMT6	0.1	1	SMK6	0.1	1	SMB6
0.1	3	SMT7	0.1	3	SMK7	0.1	3	SMB7
0.1	5	SMT8	0.1	5	SMK8	0.1	5	SMB8
0.5	0	SMT9	0.5	0	SMK9	0.5	0	SMB9
0.5	1	SMT10	0.5	1	SMK10	0.5	1	SMB10
0.5	3	SMT11	0.5	3	SMK11	0.5	3	SMB11
0.5	5	SMT12	0.5	5	SMK12	0.5	5	SMB12

همچنین به‌منظور بررسی اثر نوع محیط کشت پایه و تنظیم‌کننده رشدی IBA بر ریشه‌زایی آردوج، شاخساره‌هایی با ارتفاع بیش از یک سانتی‌متر در محیط‌های کشت پایه OM، MS، DKW (Driver and Kuniyuki medium)، WPM، MS ۱/۲ و MS ۱/٤ حاوی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) تیمار و کشت شدند و درصد ریشه‌زایی بررسی شد. برای این منظور ابتدا گیاهچه‌ها در محیط کشت القاء ریشه‌زایی تکمیل‌شده با IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) در دو مدت زمان (یک و دو هفته) کشت و سپس به محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده رشد منتقل شدند. سپس ریزنمونه‌ها به‌مدت یک، پنج و ۱۰ دقیقه به‌منظور القای ریشه‌زایی در محلول تنظیم کننده گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) غوطه‌ور و در محیط کشت پایه MS فاقد هورمون کشت شد (جدول ۲).

جدول ۲- تیمارهای محیط کشت پایه و تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA بر ریشه‌زایی آردوج در شرایط درون شیشه

Table 2. Basal media culture and IBA as plant growth regulaors on rooting of *Juniperus foetidissima* Willd. Under *in vitro* conditions

تنظیم‌کننده رشد گیاهی (IBA) IBA plant growth regulators	محیط کشت OM OM basal media	محیط کشت DKW DKW basal media	محیط کشت WPM WPM basal media	محیط کشت MS MS basal media	محیط کشت 1/2MS 1/2 MS basal media	محیط کشت 1/4MS 1/4MS basal media
القا به‌مدت ۱ هفته Induction for 1 week	OM1w	DKW1w	WPM1w	MS1w	1/2MS1w	1/4MS1w
القا به‌مدت ۲ هفته Induction for 2 weeks	OM2w	DKW2w	WPM2w	MS2w	1/2MS2w	1/4MS2w
غوطه‌ور کردن به‌مدت ۱ دقیقه dipping for 1 minute	OM1min	DKW1min	WPM1min	MS1min	1/2MS1min	1/4MS1min

www.SID.ir

Archive of SID

ادامه جدول ۲.

Continued table 2.

تنظیم‌کننده رشد گیاهی (IBA) IBA plant growth regulators	محیط کشت OM OM basal media	محیط کشت DKW DKW basal media	محیط کشت WPM WPM basal media	محیط کشت MS MS basal media	محیط کشت 1/2MS 1/2 MS basal media	محیط کشت 1/4MS 1/4MS basal media
غوطه‌ور کردن به‌مدت ۵ دقیقه dipping for 5 minute	OM5min	DKW5min	WPM5min	MS5min	1/2MS5min	1/4MS5min
غوطه‌ور کردن به‌مدت ۱۰ دقیقه dipping for 10 minute	OM10min	DKW10min	WPM10min	MS10min	1/2MS10min	1/4MS10min

ریزنمونه‌ها در دمای روز ۲±۲۵ و دمای شب ۲±۲۲ درجه سانتی‌گراد، نور سفید فلورسنت و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس نگهداری شدند. در این پژوهش آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار با شش ریز-نمونه انجام شد. تیمارهای آزمایشی سه بار واکشت و طول دوره هر واکشت ۲۱ روز تعیین شد. داده‌های به-دست آمده پس از اطمینان یافتن از نرمال‌بودن پراکنش داده‌ها (آزمون کولموگروف–اسمیرنوف) و همگنی واریانس‌ها (آزمون لون)، به‌صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از آزمون GLM تجزیه و تحلیل شدند. همچنین از نرم‌افزار SPSS ver 23 برای تجزیه و تحلیل آماری و از نرم-افزار Excel 2013 برای رسم نمودارها استفاده شد.

نتایج

بررسی اثر تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینو پورین و ایندول استیک اسید بر شاخص‌های باززایی آردوج

نتایج آزمون GLM برای متغیرهای درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره و طول شاخساره (α=۰/۰۵) نشان داد که اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IAA و BAP بر متغیرهای درصد زنده‌مانی، تعداد و طول شاخساره معنی‌دار بوده، اما بر متغیر درصد باززایی تأثیر معنی‌داری نداشت. اثر مستقل تنظیم‌کننده رشد گیاهی IAA بر متغیرهای درصد باززایی و تعداد شاخساره معنی‌دار شد، در حالی که بر درصد زنده‌مانی و طول شاخساره اثر معنی‌داری نداشت. همچنین اثر BAP به‌تنهایی برای شاخص طول شاخساره معنی‌دار بوده و بر شاخص‌های درصد زنده‌مانی، درصد باززایی و تعداد شاخساره اثر معنی-داری نداشت (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- نتایج آزمون GLM برای درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره و طول شاخساره در تیمارهای IAA و BAP

Table 3. GLM test results for survival (%), regeneration (%), number and length of shoots in BAP and IAA treatments

Sig.	F-value	میانگین مربعات Mean Squares	df	مجموع مربعات Sum of squares	شاخص Index	منابع تغییرات Sources of variation
0.147ns	1.938	0.399	2	0.798	1	IAA
0.045*	3.598	2474.623	2	4949.246	2	
0.000*	13.445	14.994	2	29.988	3	
0.221ns	1.520	7.466	2	14.932	4	
0.093ns	2.168	0.446	3	1.338	1	BAP
0.315ns	1.255	863.570	3	2590.710	2	
0.271ns	1.316	1.466	3	4.399	3	
0.000*	33.417	164.146	3	429.438	4	
0.005*	3.201	0.659	6	3.951	1	IAA × BAP
0.531*	0.873	600.455	6	3602.728	2	
0.000*	5.319	5.972	6	35.564	3	
0-019*	2.608	12.809	6	76.853	4	
		0.206	203	41.771	1	خطا Error
		687.831	21	14444.453	2	
		1.114	188	209.500	3	
		4.912	188	923.480	4	

شاخص ۱: درصد زنده‌مانی، شاخص ۲: درصد باززایی، شاخص ۳: تعداد شاخساره و شاخص ٤: طول شاخساره.

* در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است، ns در سطح پنج درصد معنی‌دار نیست.

Index 1: Survival (%), index 2: regeneration (%), index 3: number of shoots and index 4: length of shoots.
*: Significant at 5% probability level, *: not significant at 5% probability level.

بررسی اثر تنظیم‌کننده رشد کینتین و ایندول استیک اسید بر شاخص‌های باززایی آردوج

نتایج جدول ٤ نشان داد که اثر متقابل IAA و KIN بر متغیر درصد زنده‌مانی معنی‌دار است. این درحالی است که بر شاخص‌های درصد باززایی، تعداد و طول شاخساره اثرمعنی‌دار نداشت. تنظیم‌کننده رشد گیاهی IAA بر شاخص‌های درصد زنده‌مانی و درصد باززایی دارای تأثیر مستقل معنی‌دار است، درصورتی‌که تأثیر معنی‌داری بر تعداد و طول شاخساره ندارد. همچنین تنظیم‌کننده رشد گیاهی KIN تنها بر متغیر طول شاخساره اثر مستقل معنی‌داری دارد و تأثیر آن بر شاخص‌های درصد زنده‌مانی، درصد باززایی و تعداد شاخساره معنی‌دار نیست (α=۰/۰۵).

بررسی اثر تنظیم‌کننده رشد تیدیازورون و ایندول استیک اسید بر شاخص‌های باززایی آردوج

نتایج نشان داد که اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های IAA و TDZ و همچنین تأثیر تنظیم‌کننده رشد گیاهی IAA به‌طور مستقل بر شاخص‌های درصد زنده‌مانی و درصد باززایی معنی‌دار بوده و اثر معنی‌داری بر متغیرهای تعداد و طول شاخساره ندارد. همچنین تنظیم‌کننده رشد گیاهی TDZ به‌تنهایی اثرمعنی‌داری بر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری نشان نداد (α=۰/۰۵) (جدول ۵).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ٤- نتایج آزمون GLM برای متغیرهای درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره و طول شاخساره در تیمارهای IAA و KIN

Table 4. GLM test results for survival (%), regeneration (%), number and length of shoots in KIN and IAA treatments

Sig.	F-value	میانگین مربعات Mean Squares	df	مجموع مربعات Sum of squares	شاخص Index	منابع تغییرات Sources of variation
0.000*	11.120	2.423	2	4.846	1	IAA
0.030*	4.085	2806.174	2	5612.347	2	
0.458ns	0.787	0.817	2	1.633	3	
0.217ns	1.554	9.187	2	18.374	4	
0.074ns	2.345	0.511	3	1.533	1	KIN
0.317ns	1.239	851.317	3	2553.952	2	
0.255ns	1.376	1.428	3	4.284	3	
0.000*	7.319	43.265	3	129.794	4	
0.030*	2.387	0.520	6	3.120	1	IAA × KIN
0.327ns	1.227	843.108	6	5058.646	2	
0.125ns	1.715	1.780	6	10.680	3	
0.792ns	0.520	3.075	6	18.449	4	
		0.218	198	43.141	1	خطا Error
		686.883	24	16485.200	2	
		1.038	97	100.658	3	
		5.911	97	573.394	4	

شاخص ۱: درصد زنده‌مانی، شاخص ۲: درصد باززایی، شاخص ۳: تعداد شاخساره و شاخص ٤: طول شاخساره. * و ns به ترتیب معنی داری در سطح احتمال پنج درصد و عدم معنی‌داری

Index 1: Survival (%), index 2: regeneration (%), index 3: number of shoots and index 4: length of shoots. *: Significant at 5% probability level, ns: not significant.

جدول ٥- نتایج آزمون GLM برای درصد زنده‌مانی، درصد باززایی، تعداد شاخساره و طول شاخساره در تیمارهای IAA و TDZ

Table 5. GLM test results for Survival (%), regeneration (%), number and length of shoots in TDZ and IAA treatments

Sig.	F	میانگین مربعات Average of squares	df	مجموع مربعات Sum of squares	شاخص Index	منابع تغییرات Sources of variation
0.012*	4.485	0.952	2	1.904	1	IAA
0.012*	5.290	1672.840	2	3345.680	2	
0.754ns	0.284	0.137	2	0.273	3	
0.389ns	0.970	15.064	2	30.129	4	
0.144ns	1.824	0.387	3	1.162	1	TDZ
0.073ns	2.639	834.445	3	2503.336	2	
0.679ns	0.508	0.244	3	0.732	3	
0.080ns	2.445	37.981	3	113.942	4	
0.020*	2.569	0.545	6	3.272	1	IAA*TDZ
0.035*	2.756	871.421	6	5228.524	2	
0.836ns	0.359	0.172	4	0.690	3	
0.887ns	0.283	4.392	4	17.568	4	
		0.212	203	43.085	1	خطا
		316.235	24	7589.640	2	
		0.480	36	17.281	3	
		15.535	36	559.245	4	

شاخص ۱: درصد زنده‌مانی، شاخص ۲: درصد باززایی، شاخص ۳: تعداد شاخساره و شاخص ٤: طول شاخساره. * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و عدم معنی‌داری

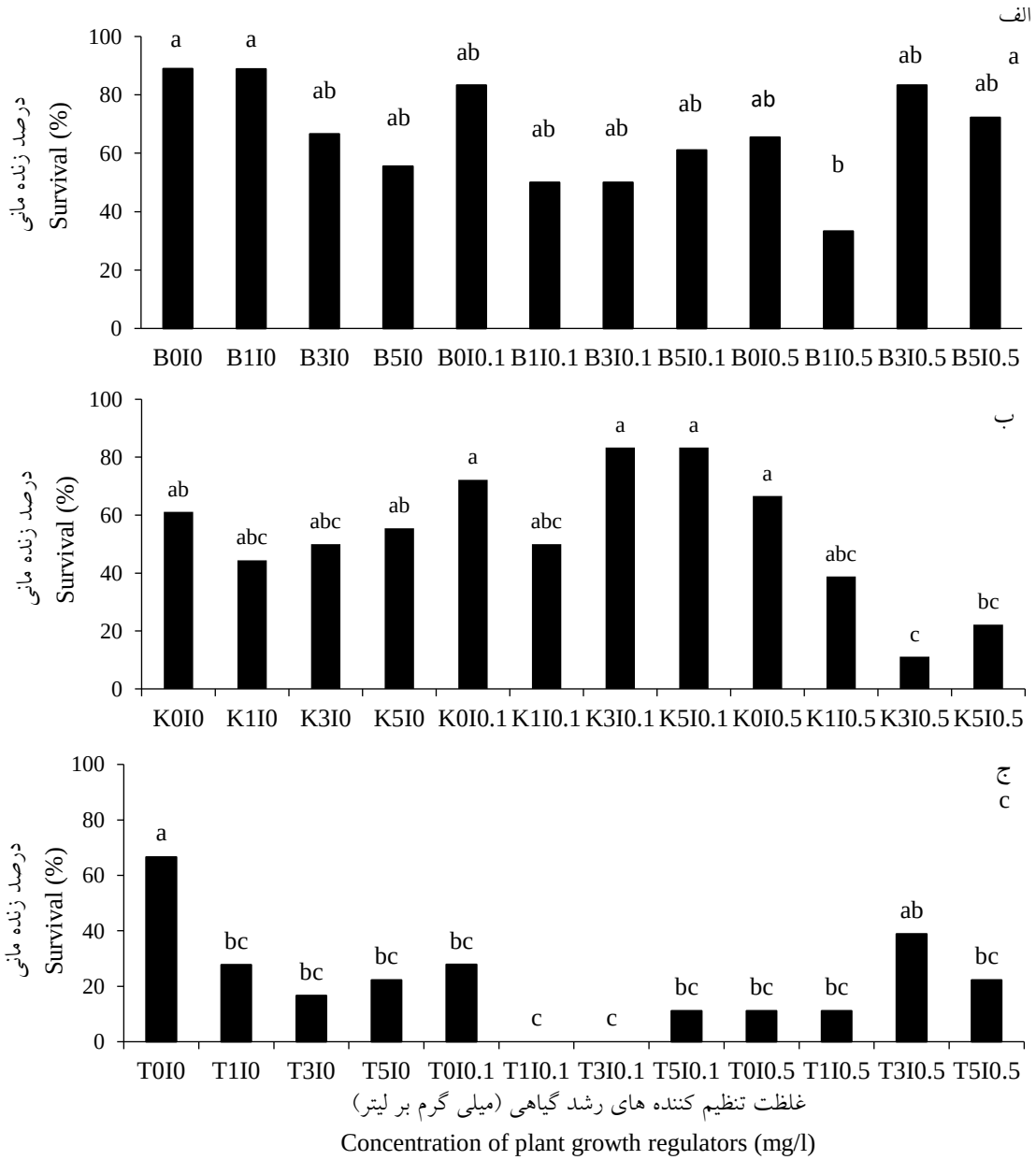
Index 1: Survival (%), index 2: regeneration (%), index 3: number of shoots and index 4: length of shoots. *: Significant at 5% probability level, ns: not significant.

www.SID.ir

Archive of SID

بررسی اثر ترکیب BAP و IAA بر شاخص‌های رشدی آردوج در شرایط درون شیشه

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که درصد زنده-مانی ریزنمونه‌ها در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر ترکیب محیط کشت معنی‌دار است. با توجه به تیمارهای مورد آزمایش، بیشترین درصد زنده‌مانی (۸۸/۸ درصد) در محیط کشت حاویBAP (صفر و ۱ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) و کمترین درصد زنده‌مانی (۳۳/۳ درصد) در ترکیب BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (شکل ۱ الف).



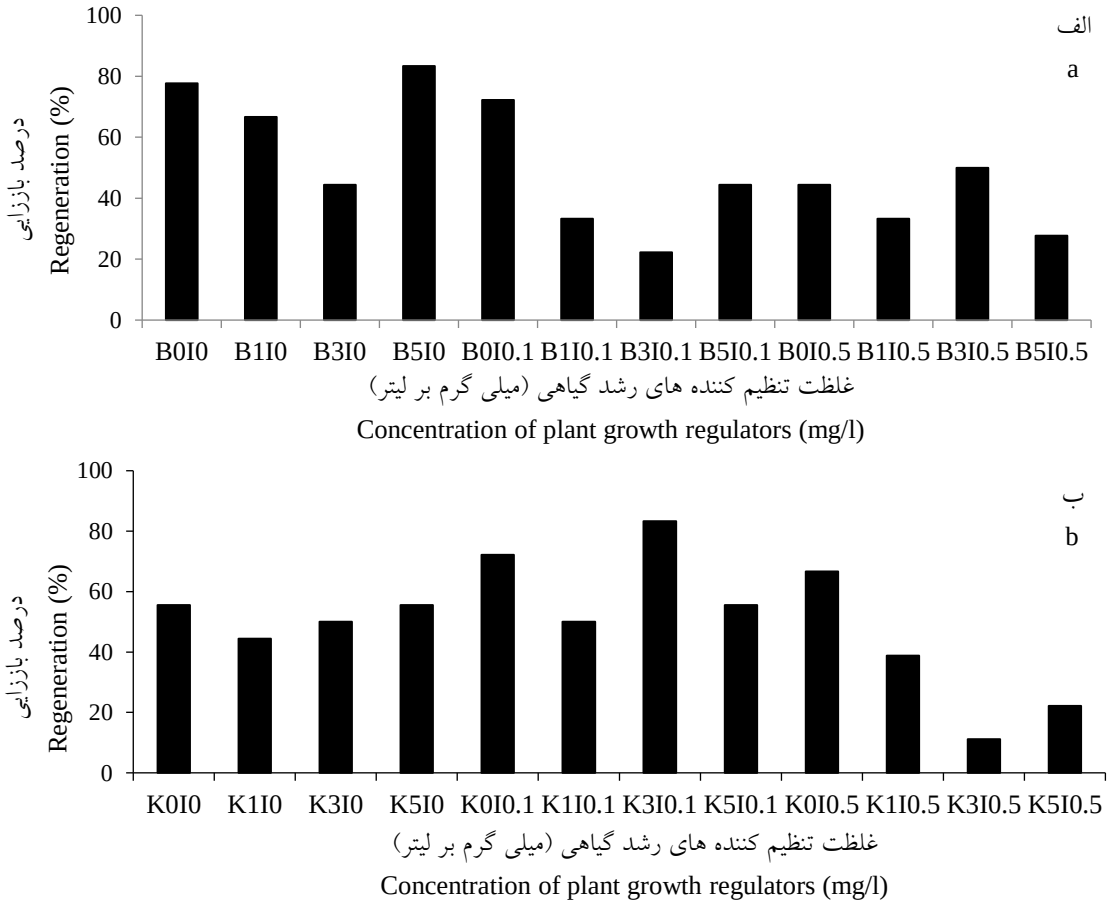
شکل ۱- درصد زنده‌مانی نوک شاخساره آردوج (*J. foetidssima*) درمحیط کشت MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی الف: IAA و BAP، ب: IAA و KIN و ج:IAA و TDZ

Figure 1. Apical shoot Survival (%) of *J. foetidssima* in MS basal media containing a: IAA and BAP, b: IAA and KIN and c: IAA and TDZ growth regulators

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین معلوم شد، بین تیمارهای مختلف تنظیم-کننده رشدی از نظر درصد باززایی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود ندارد. بر اساس نتایج به-دست آمده بیشینه مقدار باززایی (۸۸/۳ درصد) در محیط کشت MS حاوی BAP (۵ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) و کمترین درصد باززایی (۲۷/۷ درصد) در ترکیب BAP (۵ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (شکل ۲ الف). بر اساس جدول ٦ بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده رشد گیاهی از نظر میانگین تعداد شاخساره و طول شاخساره اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود دارد. بیشترین میانگین تعداد شاخساره (۳/۸۲ شاخساره در هر ریزنمونه) در محیط کشت MS تکمیل‌شده با BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و کمترین میانگین تعداد شاخساره (۱ شاخه در هر ریزنمونه) در ترکیب BAP (۱ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (جدول ٦). علاوه بر این مطابق با جدول، بیشترین میانگین طول شاخساره (۹/۷۰ میلی‌متر در هر ریزنمونه) در ترکیب BAP (صفر میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (شکل ۲: ب و ج).

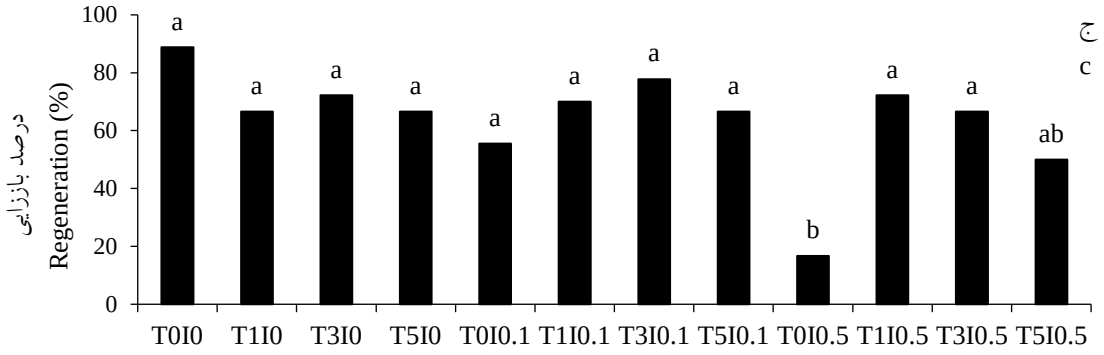


شکل ۲- درصد باززایی نوک شاخساره آردوج (*J. foetidssima*) درمحیط کشت MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی الف: IAA و BAP، ب: IAA و KIN و ج: IAA و TDZ

Figure 2. Apical shoot regeneration (%) of *J. foetidssima* in MS basal media containing a: IAA and BAP, b: IAA and KIN and c: IAA and TDZ growth regulators

www.SID.ir

Archive of SID



ادامه شکل ۲.

Continued figure 1.

جدول ٦- میانگین (اشتباه معیار) تعداد و طول شاخساره آردوج (*J. foetidssima*) در محیط کشت MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی IAA و BAP

Table 6. Mean (standard error) number and length of *J. foetidssima* shoot in MS basal media containing IAA and BAP growth regulators

میانگین طول شاخساره (میلی‌متر) Mean shoots length (mm)	میانگین تعداد شاخساره Mean number of shoots	تیمارها (میلی‌گرم) Treatments (mg)
8.40^{ab} ± (3.983)	1.92^{cde} ± (0.583)	B0I0
6.35^{cd} ± (2.718)	3.00^{ab} ± (1.017)	B1I0
6.01^{cde} ± (1.119)	2.80^{bc} ± (0.833)	B3I0
4.56^{de} ± (0.765)	2.71^{bc} ± (1.189)	B5I0
8.34^{ab}± (2.533)	3.07^{ab} ± (1.556)	B0I0.1
6.90^{bc}± (1.130)	3.82^{a} ± (1.550)	B1I0.1
4.84^{de} ± (0.963)	1.67^{de} ± (0.516)	B3I0.1
4.17^{e}± (0.457)	2.25^{bcd} ± (0.683)	B5I0.1
9.70^{a}± (2.112)	$1.73d^{e}$ ± (0.904)	B0I0.5
9.04^{a}± (2.887)	1.00^{e} ± (0.000)	B1I0.5
4.05^{e} ± (0.922)	2.00^{cd} ± (0.632)	B3I0.5
5.09^{cde} ± (1.913)	1.33^{de}± (0.516)	B5I0.5
0.000	0.000	Sig.

بررسی اثر ترکیب KIN و IAA بر شاخص‌های رشدی آردوج در شرایط درون شیشه

بر اساس نتایج به‌دست آمده، بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از نظر درصد زنده‌مانی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود دارد. بیشترین درصد زنده‌مانی (۸۳/۳ درصد) در ترکیب KIN (صفر، ۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و همچنین کمترین درصد زنده‌مانی (۱۱/۱ درصد) مربوط به ترکیب KIN (۳ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) است (شکل ۱ ب). تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده رشدی از نظر درصد باززایی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود ندارد. بیشترین درصد باززایی (۸۳/۳ درصد) در محیط کشت حاوی KIN (۳ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۱ میلی-گرم در لیتر) مشاهده می‌شود و مطابق با شکل کمترین

www.SID.ir

Archive of SID

درصد باززایی (۱۱/۱ درصد) متعلق به ترکیب KIN (۳ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) است (شکل ۲ ب). با توجه به نتایج به‌دست آمده بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از نظر تعداد شاخساره، اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد مشاهده نشد. بیشترین میانگین تعداد شاخساره (۲/۷۸ شاخه در هر ریزنمونه) در ترکیب KIN (۳ میلی‌گرم در لیتر) و IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) مشاهده می‌شود. همچنین کمترین میانگین تعداد شاخساره (۱/۳۰ شاخه در هر ریزنمونه) در محیط کشت MS پایه تکمیل‌شده با KIN (۵ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) است (جدول ۷). آنالیز تجزیه واریانس نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیمارها از نظر میانگین طول شاخساره‌ها در سطح پنج درصد وجود دارد و بیشترین میانگین طول شاخساره (۸/۸۳ میلی‌متر در هر ریزنمونه) در محیط کشت حاوی KIN (صفر میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد (جدول ۷).

بررسی اثر ترکیب TDZ و IAA بر شاخص‌های رشدی آردوج در شرایط درون شیشه

نتایج نشان داد، بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از نظر درصد زنده‌مانی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود دارد. بیشترین درصد زنده-مانی (٦٦/٦ درصد) در ترکیب TDZ (صفر میلی‌گرم در لیتر) با IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) مشاهده می-شود. همچنین کمترین درصد زنده‌مانی (فاقد ریزنمونه زنده) مربوط به ترکیب TDZ (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) است (شکل ۱ ج).

جدول ۷- میانگین (اشتباه معیار) تعداد و طول شاخساره آردوج درمحیط کشت MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی IAA و KIN

Table 7. Mean (standard error) number and length of *J. foetidssima* shoots in MS basal media containing IAA and KIN growth regulators

میانگین طول شاخساره (میلی‌متر) Mean shoots length (mm)	میانگین تعداد شاخساره Mean number of shoots	تیمارها (میلی‌گرم) Treatments (mg)
7.45^{ab} ± (3.447)	1.80± (1.032)	K0I0
6.84^{ab}± (1.418)	1.87± (0.991)	K1I0
5.19^{b}± (2.175)	2.78± (0.971)	K3I0
5.24^{b}± (0.918)	2.20 ± (1.398)	K5I0
8.83^{a} ± (3.811)	2.23 ± (1.165)	K0I0.1
5.80^{b}± (1.725)	2.22± (0.971)	K1I0.1
5.68^{b} ± (1.545)	2.27± (1.032)	K3I0.1
4.91^{b}± (0.915)	1.30± (0.483)	K5I0.1
6.68^{ab}± (3.796)	1.58± (0.792)	K0I0.5
4.95^{b}± (0.929)	2.57± (1.272)	K1I0.5
4.47^{b}± (0.608)	1.50± (0.707)	K3I0.5
4.33^{b}± (1.266)	1.50± (0.577)	K5I0.5
0.003	0.089	Sig.

آنالیز تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد بین تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده رشدی از نظر درصد باززایی اختلاف معنی‌داری در سطح پنج درصد وجود دارد. بیشترین درصد باززایی (۸۸/۸ درصد) در ترکیب TDZ (صفر میلی‌گرم در لیتر) با IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) مشاهده می‌شود. کمترین درصد باززایی (١٦/٧ درصد) نیز متعلق به ترکیب TDZ (صفر میلی-گرم در لیتر) با IAA (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) است (شکل ۲ ج). بیشترین میانگین تعداد شاخساره (١/٦٧ شاخه در هر ریزنمونه) در ترکیب TDZ (۳ میلی‌گرم

www.SID.ir

Archive of SID

در لیتر) و IAA (صفر میلی‌گرم در لیتر) ثبت شد و کمترین میانگین تعداد شاخساره (ازبین‌رفتن ریزنمونه) مربوط به ترکیب TDZ (۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) با IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) است. در صورتی که تجزیه واریانس انجام‌شده اختلاف معنی‌داری را بین تیمارها نشان نداد (جدول ۸). همچنین بیشترین میانگین طول شاخساره (۱۱/۸۱ میلی‌متر در هر ریزنمونه) در ترکیب TDZ (صفر میلی‌گرم در لیتر) و IAA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده می‌شود که مطابق با جدول، اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از نظر شاخص طول شاخساره مشاهده نشد (جدول ۸).

جدول ۸- میانگین (اشتباه معیار) تعداد و طول شاخساره آردوج درمحیط کشت MS حاوی تنظیم‌کننده‌های رشدی IAA و TDZ

Table 8. Mean (standard error) number and length of *J. foetidssima* shoots in MS basal media containing IAA and TDZ growth regulators

تیمارها (میلی‌گرم) Treatments (mg)	میانگین تعداد شاخساره Mean number of shoots	میانگین طول شاخساره (میلی‌متر) Mean shoots length (mm)
T_0I_0	1.25± (0.452)	8.17± (4.365)
T_1I_0	1.40 ± (0.894)	6.48± (1.507)
T_3I_0	1.67± (1.154)	5.19± (1.268)
T_5I_0	1.50 ± (1.000)	5.99± (1.453)
$T_0I_{0.1}$	1.40± (0.547)	11.81± (7.645)
$T_1I_{0.1}$	0	0
$T_3I_{0.1}$	0	0
$T_5I_{0.1}$	1.00 ± (0.000)	7.81± (1.145)
$T_0I_{0.5}$	1.50 ± (0.707)	11.55± (8.449)
$T_1I_{0.5}$	1.00± (0.000)	7.74± (1.046)
$T_3I_{0.5}$	1.57± (0.786)	5.65± (1.851)
$T_5I_{0.5}$	1.25± (0.500)	5.15± (0.965)
Sig.	0.958	0.191

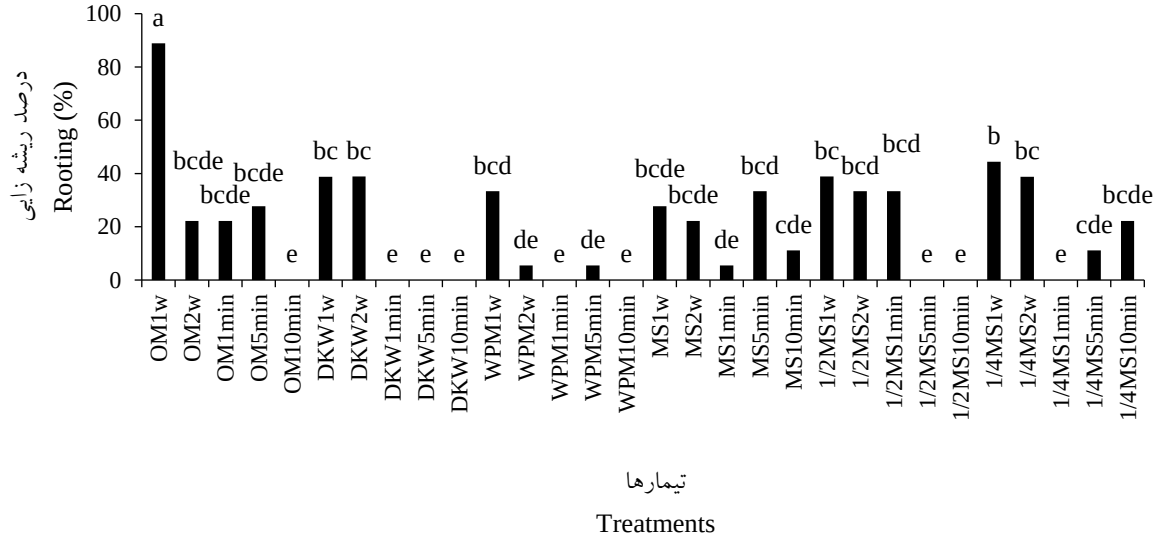
ریشه‌زایی گیاهچه‌های باززایی شده آردوج

تجزیه واریانس تیمارهای ریشه‌زایی نشان داد که بین تیمارهای مختلف محیط کشت پایه و تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) از نظر درصد ریشه‌زایی اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان پنج درصد وجود دارد (جدول ۹). هم در تیمارهای القای ریشه‌زایی و هم محیط کشت ریشه‌زایی، تفاوت معنی-دار در بین تیمارها مشاهده شد. نتایج نشان داد که بدون القای ریشه‌زایی توسط تنظیم‌کننده رشد IBA، امکان تولید ریشه در آردوج بسیار ضعیف است. بیشینه درصد ریشه‌زایی (۸۸/۹ درصد) در شرایط القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) و کشت در محیط کشت OM به‌مدت ۱ هفته به-دست آمد. همچنین القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) و کشت در محیط کشت ۱/۴MS به‌مدت ۱ هفته در رتبه دوم با ۴۴/۴ درصد ریشه‌زایی قرار دارد. کمترین درصد ریشه‌زایی در تیمارهای بدون القای ریشه‌زایی مشاهده شد. آنالیز تجزیه واریانس نشان می‌دهد بین تیمارهای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA در بین هر کدام از محیط کشت‌های مختلف از نظر ریشه‌زایی اختلاف معنی‌داری وجود دارد. برای محیط کشت OM، ۱/۴MS، ۱/۲MS و WPM بیشینه درصد ریشه‌زایی به‌ترتیب (۸۸/۹، ۴۴/۴، ۳۸/۸ و ۳۳/۳ درصد) در شرایط القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) به‌مدت ۱ هفته به-دست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۳۸/۸ درصد)

www.SID.ir

Archive of SID

برای محیط کشت DKW مربوط به القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) به‌مدت ۱ هفته و ۲ هفته است. برای محیط کشت MS بیشینه درصد ریشه‌زایی (۳۳/۳ درصد) در شرایط غوطه‌ور کردن به‌مدت ۵ دقیقه در IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) به‌دست آمد. (شکل ۳).



شکل ۳- درصد ریشه‌زایی آردوج (*J. foetidssima*) تحت تأثیر محیط کشت‌های پایه و تنظیم‌کننده‌ی رشدی IBA.

Figure 3. The influence of basal media and IBA plant growth regulators on rooting (%) of *J. foetidssima*

جدول ۹- نتایج تجزیه واریانس درصد ریشه‌زایی شاخساره آردوج (*J. foetidssima*) در محیط ای کشت مختلف

Table 9. ANOVA rooting percentage results of *J. foetidssima* shoots in different basal media

منابع تغییرات Sources of variation	مجموع مربعات Sum of squares	df	میانگین مربعات Average of squares	F	Sig.
تیمارها Treatments	36010.103	29	1241.728*	5.916	0.000
خطا Error	12592.993	60	209.883		
کل Total	48603.097	89			

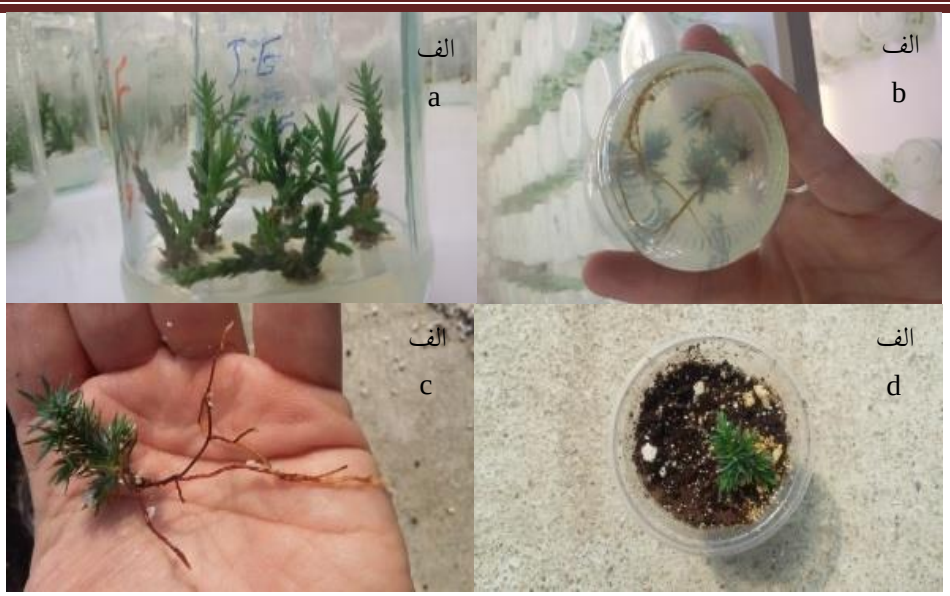
* و ns به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد و عدم معنی‌داری

*: Significant at 5% probability level, ns: not significant.

گیاهچه‌های ریشه‌دار شده برای سازگاری به گلخانه سازگاری منتقل و در بستر پرلیت قرار گرفتند و پس از آن گیاهچه‌ها با ۹۰ درصد سازگاری به گلخانه رشد با بستر حاوی ۲/۳ پیت ماس و ۱/۳ پرلیت منتقل شدند (شکل ٤).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ٤- مراحل مختلف باززایی، ریشه‌زایی و سازگاری آردوج (*J. foetidssima*) در شرایط درون شیشه. الف: گیاهچه‌های باززایی شده، ب: گیاهچه‌های ریشه‌دار شده، ج: گیاهچه‌های منتقل شده به بستر پرلیت برای سازگاری، د: گیاهچه‌های سازگار شده در بستر پرلیت-پیت ماس.

Figure 4. Different stages of regeneration, rooting and acclimatization of *J. foetidssima* under *in vitro* conditions. a: regenerated plantlets, b: rooted plantlets, c: transferred plantlets to perlite substrate for acclimatization and d: acclimatized plantlets in the perlite-peat moss substrate.

بحث

در ارتباط با پرآوری درون شیشه گیاه آردوج، اطلاعات زیادی تاکنون منتشر نشده است. به‌دلیل ویژگی‌های خاص آردوج، امکان تکثیر از طریق بذر بسیار محدود بوده و روش‌های تکثیر غیرجنسی مانند قلمه‌زنی؛ با موفقیت زیادی همراه نبوده است. در موفقیت کشت بافت گیاهی شاخص‌های بسیار متعددی مانند ژنوتیپ و نوع گونه، شرایط گیاه مادری، نوع و سن ریزنمونه، شرایط محیط کشت پایه، نوع، غلظت و نسبت تنظیم‌کننده رشد گیاهی و بسیاری از عوامل درونی و بیرونی مؤثر هستند. در بهینه‌سازی دستورالعمل کشت درون شیشه هر گیاهی باید برخی از شاخص‌ها بهینه‌سازی شود. از مهم‌ترین شاخص-های تأثیرگذار در پژوهش‌ها، بررسی تأثیر تنظیم‌کننده-های رشدی بر مقدار پرآوری و ریشه‌زایی ریزنمونه-های مورد بررسی است. در این بررسی نیز تأثیر سه نوع تنظیم‌کننده رشد گیاهی سیتوکینینی (BAP, KIN, TDZ) در غلظت‌های مختلف به‌صورت مستقل و یا در ترکیب با تنظیم‌کننده رشد اکسینی (IAA) بررسی شد. نتایج کلی نشان داد که اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی IAA و BAP بر متغیرهای درصد زنده-مانی، تعداد و طول شاخساره، اثر متقابل IAA و KIN بر متغیر درصد زنده‌مانی و اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های IAA و TDZ بر شاخص‌های درصد زنده‌مانی و درصد باززایی در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار هستند. همچنین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی BAP و KIN تأثیر معنی‌داری بر متغیر طول شاخساره داشته-اند. در صورتی که تنظیم‌کننده رشد گیاهی TDZ اثر معنی‌داری بر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری نشان نداد. با توجه به شرایط ریزنمونه مورد استفاده نتایج برای هر کدام از تیمارهای مورد استفاده متغیر بوده و ضرورتاً یک ترکیب مطلوب برای تولید بیشینه

www.SID.ir

Archive of SID

شاخساره را نمی‌توان معرفی کرد. در تیمارهای حاوی BAP و IAA بیشینه پرآوری و تولید شاخساره در محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA با میانگین ۳/۸۲ شاخساره در هر ریزنمونه ثبت شد. در تیمار حاوی KIN و IAA بیشینه تعداد شاخساره (۲/۷۸) در محیط کشت MS تکمیل‌شده با ۳ میلی‌گرم در لیتر کینتین مشاهده شد. همچنین در تیمارهای مربوط به TDZ و IAA نیز بیشینه پرآوری شاخساره (۱/۵۷) در محیط کشت حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر TDZ و نیم میلی‌گرم در لیتر IAA به‌دست آمد. این نتایج نشان داد که محیط کشت پایه MS تکمیل‌شده با BAP برای تولید بیشینه شاخساره بسیار مناسب‌تر از دو تنظیم‌کننده رشد سیتوکینینی دیگر یعنی کینتین و تیدیازورن است. Kaviani و همکاران (2016) بیان کردند که بیشترین تعداد شاخه اقاقیا (*Robinia pseudoacasia* L.) در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. نتایج Safarnejad (2015) و Sazmand and Safarnejad (2016) که به‌ترتیب در گیاه عناب (*Ziziphus jujuba* L.) و زرشک (*Berberis vulgaris* L.) نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره مربوط به محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA است. Lee و همکاران (2018) با بررسی باززایی گونه بامبو (Bamboo) محیط کشت MS و تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP را برای تحریک رشد جوانه، جوانه‌زنی جوانه‌های جانبی و تکثیر شاخه‌ها گزارش کردند که با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش منطبق است. همچنین بررسی‌هایی که در دیگر گونه‌های جنس ارس انجام شده است، در محیط کشت‌های غیر از MS نیز BAP به‌عنوان مؤثرترین سیتوکنین برای شاخه‌زایی گزارش شده است. Castro and Belo (2011) با بررسی ریزازدیادی گونه *J. navicularis* به این نتیجه رسیدند که محیط کشت OM و GD هر دو حاوی ۰/٤٥ میکرومولار BAP بیشترین شاخه‌زایی را داشتند. در پژوهش‌هایی مشابه Asrarzaidi و همکاران (2012) در ریزازدیادی سه گونه جنس ارس (*J. excelsa, J.horizontalis, J.chinensis*) بیشترین تعداد شاخساره را در محیط کشت WPM با ۰/۵۰ میلی‌گرم در لیتر BAP گزارش کردند. در کشت درون شیشه‌ای از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای تسریع در رشد استفاده می‌شود و به‌عنوان یک قاعده کلی اکسین یا سیتوکنین یا هر دو با هم به محیط کشت افزوده می‌شوند، نسبت مناسب اکسین به سیتوکنین به نوع گونه و ریزنمونه بستگی دارد. بر این اساس پژوهش‌هایی در مورد دیگر گونه‌های گیاهی انجام شده است که همسو با نتایج به‌دست آمده در این پژوهش است. Refaki (2009) با باززایی گونه *J. excelsa* از ریزنمونه‌های شاخه‌های انتهایی، به این نتیجه رسید که مؤثرترین سیتوکنین در تشکیل شاخه‌ها در WPM، 2iP در غلظت ۱۰ میکرومولار (۸٦/۷ درصد) و KIN با غلظت ۲ میکرومولار (۷۳/۳ درصد) است. در تحقیقی Loureiro و همکاران (2007) محیط کشت OM با ۲/۷٤ میکرومولار NAA و ۱/۸٦ میکرومولار KIN را بهترین ترکیب برای شاخه‌زایی گونه *J. phoenicea* گزارش کردند. همچنین Al-Ramamneh و همکاران (2017) گزارش کردند OM حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TIBA به مقدار قابل‌توجهی بیشترین تعداد شاخه را برای گونه *J. phoenicea* داشته است.

در ارتباط با افزایش طول شاخساره نیز در سه آزمایش مورد بررسی نتایج متفاوتی مشاهده شد. بیشینه ارتفاع شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA (۱۱/۸۱ سانتی‌متر)، به‌دست

www.SID.ir

Archive of SID

آمد. در هر سه آزمایش مورد بررسی بیشینه طول شاخساره در محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده رشد سیتوکینینی به‌دست آمد، به‌نظر می‌رسد با توجه به نقش تنظیم‌کننده رشد سیتوکینینی در افزایش تقسیم سلول و تنظیم‌کننده رشد اکسینی در بزرگ شدن سلول‌ها، این نتایج قابل تفسیر باشد که در محیط کشت‌های حاوی سیتوکینین بیشتر افزایش تعداد شاخساره و در محیط کشت‌های فاقد سیتوکینین و حاوی اکسین افزایش طول شاخساره مورد انتظار باشد هرچند که عوامل متعدد دیگری نیز مانند نوع و غلظت نمک‌های معدنی و آلی در محیط کشت نیز می‌تواند مؤثر باشد. در پژوهشی Loureiro و همکاران (2007) گزارش کردند که بهترین ضریب افزایش طول شاخساره درگونه *J. phoenicea* مربوط به محیط DKW حاوی ۲/۷٤ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱/۸٦ میلی‌گرم در لیتر NAA است. همچنین Al-Ramamneh و همکاران (2017) گزارش کردند محیط OM حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و TDZ به‌طور معنی‌داری بیشترین طول شاخه را برای گونه *J. phoenicea* داشته است. گونه‌های مختلف درختان چوبی پاسخ‌های متفاوتی برای ریشه‌زایی نسبت به محیط کشت‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نشان می‌دهند و این امر در بررسی‌های انجام‌شده در مورد درختان به اثبات رسیده است. تنظیم‌کننده رشد گیاهی اکسین در بسیاری از گیاهان معمولاً سبب تحریک ریشه‌زایی و جلوگیری از ایجاد شاخه‌های جانبی می‌شود. اکسین برای القای ریشه ضروری بوده و در خیلی از گیاهان به‌صورت موفقیت‌آمیزی برای افزایش درصد ریشه‌زایی مورداستفاده قرار می‌گیرد. یکی از رایج‌ترین اکسین‌ها که در کشت بافت گیاهی مورداستفاده قرار می‌گیرد تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA است. در این بررسی انواع محیط کشت‌های پایه در غلظت نیم میلی‌گرم در لیتر IBA به‌صورت القا در محیط کشت و همچنین بدون القا (غوطه‌ور) در محیط کشت ریشه‌زایی مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی نتایج نشان داد که بین تیمارهای مختلف ریشه‌زایی اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان پنج درصد وجود دارد. نتایج ریشه‌زایی برای هر یک از محیط کشت‌ها متغیر بوده و بیشینه درصد ریشه‌زایی (۸۸/۹ درصد) در شرایط القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (۲/٤ میکرومولار) در محیط کشت OM به‌مدت یک هفته ثبت شد. آزمایشات انجام‌شده توسط Loureiro و همکاران (2007) در گونه *J. phoenicea* نشان داد که بیشترین درصد ریشه‌زایی (٤۰ درصد) مربوط به محیط کشت OM برای پنج دقیقه غوطه‌وری در ۲/٤ میکرو مولار IBA به‌دست آمد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. نتایج پژوهش های Castro and Belo (2011) نشان داد بیشترین ریشه‌زایی (٦۰ درصد) گونه *Juniperus navicularis* مربوط به محیط کشت OM با ۱۲ میکرومولار IBA است. با توجه به بررسی‌های Al-Ramamneh و همکاران (2017) محیط کشت OM حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر TIBA به‌مقدار قابل‌توجهی بیشترین نرخ ریشه‌زایی را برای گونه *J. phoenicea* داشته است. همچنین Asrarzade و همکاران (2012) با بررسی ریزازدیادی سه گونه از جنس ارس (*J. excelsa, J.horizontalis, J.chinensis*) گزارش کردند که بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد. نتایج این بررسی نشان داد که برای القای ریشه و ریشه‌زایی در گیاهان به‌خصوص گیاهان چوبی استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی اکسین ضروری است که با نتایج پژوهش‌های دیگر محققین مطابقت دارد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری کلی

در بین تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی آزمایش‌شده، محیط کشت پایه MS تکمیل‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA برای پرآوری و تولید شاخساره‌ها و محیط کشت MS حاوی نیم میلی‌گرم در لیتر IAA برای رشد طولی شاخساره آردوج مناسب بود. همچنین بهترین محیط کشت برای ریشه‌زایی گونه آردوج القای تنظیم‌کننده رشد گیاهی IBA (نیم میلی‌گرم در لیتر) به محیط کشت پایه OM به‌مدت ۱ هفته بود. کلیه گیاهان ریشه‌دار شده در گلخانه سازگاری حاوی ۲/۳ غلظت پیت ماس و ۱/۳ غلظت پرلیت با ۹۰ درصد سازگاری به گلخانه رشد منتقل شدند.

References

- Aayan, S., M. Kucuk, F. Ulu, V. Gercek, A. Sahin & A. Sivaciogu, 2004. Vegetative propagation possibilities of some natural *Juniper* (*Juniperus* L.) species, *Gazi University Journal of Forestry Faculty*, 4(1): 1-12.
- Ahani, H., H. Jalilvand, S. M. Hosseini Nasr, H. Soltani Khuhbanani, M. R. Ghazi & H. Mohamadzadeh, 2013. Reproduction of juniper (*Juniperus polycarpos*) in Khorasan Razavi, Iran, *Forest Science and Practice*, 15(3): 231-237. (In Persian)
- Ali-Ahmad Korori, S. & M. Khoshnevis, 2000. Ecological and Environmental Studies of *Juniperus* Habitats in Iran, Research Institute of Forests and Rangelands press, Tehran, Iran, 338-353. (In Persian)
- Al-Ramamneh, E. A. D., N. Daradkeh, T. Rababah, D. Pacurar & M. Al-Qudah, 2017. Effects of Explant, media and growth regulators on *In vitro* regeneration and antioxidant activity of *Juniperus phoenicea*, *Australian Journal of Crop Science*, 11(7): 828-837.
- Asrarzaidi, M., S. Khan, N. Jahan, A. Yousafzai & A. Mansoor, 2012. Micro propagation and conservation of three *Juniperus* species (*Cupressace*), *Pakistan journal of botany*, 44(1): 301-304.
- Asri, Y. & L. Partonia, 2017. Site and silvicultural characteristics of *Juniperus foetidissima* Willd. Endangered species in Arasbaran Biosphere Reserve, *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 24(4): 687-699. (In Persian)
- Bagheri, A. & M. Saffari, 1997. *In Vitro* Culture of Higher Plants (translation). Ferdowsi University of Mashhad press, Mashhad, Iran, 406 p (In Persian)
- Castro, R. C. & A. F. Belo, 2011. Micro propagation of *Juniperus navicularis*, an endemic and rare species from Portugal SW coast, *Plant Growth Regul*, 65(2): 223-230.
- Darroudi, H., M. Akbarinia, E. Khosrojerdi & M. Ghazi, 2014. Effects of culture bed on morphological and physiological characteristics of Greek *juniper* seedlings (*Juniperus excels* M.Bieb.), *Journal of Plant Research*, 27(4): 613-621. (In Persian)
- Kaviani, B., N. Negahdar & D. Hashemabadi, 2016. Improvement of Micro propagation and Proliferation of *Robinia pseudoacasia* L. Using Plant Growth Regulators and Extracts of Brown Seaweed *Ascophyllum nodosum*, *Journal of Crop Prodauction and Processing*, 21(7): 61-79. (In Persian)
- Khoushnevis, M., S. A. A. Koruri, M. Teimouri, M. Matinizadeh, A. Rahmani & A. Shirvany, 2008. The effect of different treatments on rooting of *Juniperus excelsa* cutting, *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 16(1): 158-167. (In Persian)
- Khoushnevis, M., S. Aliahmad Koruri, M. Matinizadeh, F. Moraghebi & M. Teymoiri, 2000. The effect of different treatments in propagation of *Juniperus excelsa* by seeds. Proceeding of National Congress of Northern Forests Management and Sustainable Development, Ramsar, Iran, pp. 42-53. (In Persian)
- Lee, P. C., S. Kumar & N. Shukor, 2018. *In Vitro* Regeneration of *Bamboo* Species, *Pert Anika Journal of Scholarly Research Reviews*, 4(3): 80-88.
- Loureiro, J., A. Capelo, G. Brito, E. Rodriguez, Rodriguez, S. Rodriguez, G. Pinto & C. Santos, 2007. Micropropagation of *Juniperus phoenicea* from adult plant explants and analysis of ploidy stability using flow cytometry, *Biologia Plantarum*, 51(1): 7-14
- Pirani, A., H. Moazzeni, S. Mirinejad, F. Naghibi & M. Mosaddegh, 2011. Ethno

www.SID.ir

Archive of SID

botany of *Juniperus excelsa* M. Bieb. (*Cupressaceae*) in Iran, *Ethnobotany Research & Applications*, 9: 335-342. (In Persian)

- Rifaki, N., A. S. Economou, S. Hatzilazarou & A. Hatzistathis, 2009. Shoot regeneration from shoot tip explants of *Juniperus excelsa* Bieb, *Propagation of Ornamental Plants*, 9(1): 53-55.
- Safarnejad, A., 2015. Effects of growth regulators on *In vitro* regeneration of *Ziziphus jujube*, *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 23(1): 40-48. (In Persian)
- Sarhangzadeh, J., 2019. Habitat suitability modeling for Juniper (Juniperus foetidissima) in Arasbaran Biosphere Reserve, *Journal of Forest Research and Development*, 5(1): 94-112. (In Persian)
- Sazmand, M. & A. Safarnejad, 2016. Callus induction, regeneration and proliferation of *Berberis vulgaris* var. asperma using *In vitro* technique, *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 24(1): 92-101. (In Persian)

www.SID.ir

Archive of SID

The effects of different plant growth regulators on micropropagation of *Juniperus foetidissima* Willd

A. Fathollahi Qarachoboogh[1], A. Alijanpour[*2], B. Hosseini[3], A. Banj Shafiei[4]

1- Ph.D. student of Forestry, Faculty of Agricalture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (ayoubfg@yahoo.com)
2- Associate Professor, Forestry department, Faculty of Agricalture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (a.alijanpour@urmia.ac.ir)
3- Associate Professor, Horticultural Department, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (b.hosseini@urmia.ac.ir)
4- Associate Professor, Forestry department, Faculty of Agricalture and Natural Resources, Urmia University, Urmia, I. R. Iran. (a.banjshafiei@urmia.ac.ir)

Received: 22.05.2020 Accepted: 13.06.2020

Abstract

This research was carried out with the aim of optimizing *in vitro* proliferation of *J. foetidissima* under various proliferations and rooting treatments. For this purpose, the plant samples were collected of healthy and young annual branches of this species without symptoms of disease and deficiency from Arasbaran forests. This experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design and data were analyzed using two-way GLM. In order to test micro propagation, well established explants were treated with BAP, KIN and TDZ growth regulators at 4 levels (0, 1, 3, 5 mg / l) individually or in combination with IAA at three levels (0, 0.1 and 0.5 mg / l). Various parameters such as survival percentages, regeneration percentage, number of shoots and shoot length were considered. Also in order to survey rooting in *J. foetidissima*, shoots over 1 cm height were cultured in OM, MS, DKW, WPM, 1/2 MS and 1/4 MS media containing IBA (0.5 mg/l) and rooting percentage was recorded. Results revealed that, there was a significant difference at 5% level between different experimental treatments. In BAP and IAA experiments, the highest shoot proliferation (3.82, 2.78 and 1.67 shoots per explant) were obtained in MS medium supplemented with BAP (1 mg/l) and IAA (0.1 mg/l), KIN (3 mg/l) and TDZ (3 mg/l) respectively.

Keywords: *Juniperus foetidissima*, Plant Growth Regulators, Micro propagation, Rooting.

[*] Corresponding author Tel: +984432770489

www.SID.ir