

## اثر تنظیم‌کننده‌های رشد و زغال فعال بر تکثیر درون شیشه‌ای گیاه آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L.)

سام شمسیان<sup>۱\*</sup>، منصور امیدوی<sup>۲</sup> و سپیده ترابی<sup>۳</sup>

۱- نویسنده مسئول، دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران، پست الکترونیک: sam.sh983@yahoo.com

۲- استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۳- استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

تاریخ دریافت: مهر ۱۳۹۳ تاریخ اصلاح نهایی: اردیبهشت ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: اردیبهشت ۱۳۹۴

### چکیده

صبرزد (*Aloe vera* L.) یکی از گیاهان با ارزش در صنایع دارویی، آرایشی، بهداشتی و غذایی محسوب می‌شود. با توجه به نیاز روزافزون به این گیاه تحقیقات گسترده‌ای بر کشت درون شیشه‌ای آن انجام شده است. تکثیر درون شیشه‌ای این گیاه روشی مناسب و کارآمد برای تکثیر انبوه و همچنین استفاده از متابولیت‌های ثانویه می‌باشد. در این تحقیق بهترین روش سترون‌سازی ریزنمونه‌های برگرفته از گیاهچه‌های آلوئه‌ورا و اثر تنظیم‌کننده‌های رشد BAP، NAA و زغال فعال مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی (CRD)، ۳ تکرار و ۵ تیمار طراحی شد. BAP با غلظت‌های ۵ و ۴ میلی‌گرم در لیتر و NAA ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و زغال فعال ۲ گرم در لیتر در محیط کشت MS برای القا جوانه‌های جانبی از گیاهچه مورد مطالعه قرار گرفت. بهترین پروتکل، قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ (۲۰ دقیقه)، الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه)، هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ (۲۰ دقیقه)، کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه) بود و همچنین محیط کشت MS به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ گرم در لیتر زغال فعال بهترین محیط برای القاء جوانه جانبی شناخته شد. جوانه‌های بدست‌آمده در محیط کشت MS حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA ریشه‌دار شدند و ۸۵٪ پاجوش‌های بدست‌آمده پس از طی مرحله سازگاری در گلخانه زنده ماندند.

واژه‌های کلیدی: آلوئه‌ورا (*Aloe vera* L.)، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، جوانه جانبی، ریزازدیادی، زغال فعال

### مقدمه

تگزاس کشت می‌شود. یکی از دلایلی که گیاه آلوئه‌ورا از آفریقا به دیگر مناطق جهان منتقل شد، نقش مؤثر آن در درمان برخی بیماری‌ها بود و بدین علت مسافرانی که با لنج‌ها به سفرهای دریایی می‌پرداختند، این گیاه را الزاماً به‌عنوان کمک‌های اولیه به همراه خود به نقاط مختلف می‌بردند و این مسئله سبب پراکنش آن به سراسر دنیا شد (Mousavi & Esteki, 2010). در شیرابه و ژل برگ‌های

گیاه دارویی صبرزد (*Aloe vera*) از خانواده (Liliaceae) و بومی آفریقا است که به آن زنبق بیابانی یا صحرائی هم می‌گویند. در قرن هفدهم میلادی کشت آن در برخی مناطق مانند مصر و جزایر بارباروس متداول شد. امروزه در جزایر هندوستان، کوراکائو، جزایر اندونزی، سواحل مدیترانه، جامائیکا، پورتوریکو و در ایالت فلوریدا و

به جای IBA تعداد کمی جوانه جانبی تشکیل شد و در محیطی که فقط IAA بکار رفت هیچگونه جوانه نابجایی تشکیل نشد (Meyer & Vanstaden, 1991). Mukherjee و Roychowdhury (۲۰۰۸) از نوک ساقه به‌عنوان ریزنمونه استفاده کردند و بهترین محیط کشت را محیط MS همراه با IBA به میزان ۲ mg/L و BAP به میزان ۰/۱ mg/L و KIN به میزان ۰/۲ mg/L معرفی کردند (که ۷۸٪ ریزنمونه‌ها تکثیر یافتند). بیشترین پاجوش به ازای هر ریزنمونه نیز از همین محیط و پس از گذشت ۵ هفته بدست آمد (Mukherjee & Roychowdhury, 2008). Supe (۲۰۰۷) بر روی باززایی درون شیشه‌ای *Aloe* تحقیق کرد و دریافت که کاربرد نوک ساقه به‌عنوان ریزنمونه در محیط MS همراه با بنزیل آمینوپورین BA به میزان ۴ میلی‌گرم در لیتر و ایندول استیک اسید NAA به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه را دربر دارد. ریشه‌دهی گیاهچه‌ها در محیط کشت MS همراه با ایندول بوتیریک اسید IBA به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر انجام شد (Supe, 2007).

### مواد و روش‌ها

#### جمع‌آوری نمونه

در تابستان سال ۱۳۹۲ گیاهچه‌های آلوئه‌ورا از گلخانه دانشکده کشاورزی تربیت مدرس تهیه و به آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران منتقل شدند.

#### سترون‌سازی ریزنمونه‌ها

گیاهان به‌مدت ۳۰ دقیقه در آب جاری برای حذف ضایعات خارجی در سطح برگ‌ها و بین لایه‌های برگ شستشو داده شد. سپس برگ‌ها به‌ترتیب و لایه لایه از خارج به داخل بدون آسیب به ساقه جدا گردید و فقط دو برگ انتهایی روی ساقه حفظ شدند. ریزنمونه در این مرحله از محور اصلی ساقه به طول ۲/۵-۲ سانتی‌متر تشکیل شد و سپس به چندین روش مطابق جدول ۱ سترون شدند.

این گیاه ترکیب‌های مختلفی مانند آلوئین، باربالوئین، پلی‌ساکارید و گلیکوپروتئین وجود دارد که در درمان بیماری‌ها مورد استعمال قرار می‌گیرد. این گیاه در فرآورده‌های آرایشی و بهداشتی مانند صابون، شامپو، کرم‌های ضدآفتاب و لوسیون‌ها استفاده می‌گردد (Cole & Heard, 2007). از ژل این گیاه در ساخت نوشیدنی‌ها، کمپوت‌ها و کپسول‌ها استفاده می‌شود، همچنین این گیاه در سوپ‌ها و سالادهای فصل نیز استفاده می‌شود (Chow *et al.*, 2005). پماد ساخته شده از آن خاصیت ضدویروسی دارد و در درمان سوختگی‌های درجه دو و سه کاربرد دارد (Karimi, 2010; Ziaee *et al.*, 2005; Yazdani *et al.*, 2006; Williams *et al.*, 1996; Yin & Xu, 1998; Yongchaiyudha *et al.*, 1996).

با توجه به اهمیت و نیاز روزافزون به گیاه دارویی صبرزرد برای تولید تجاری و یا افزایش عملکرد برگ از راه افزایش سطح زیر کشت، روش‌هایی مورد نیاز است تا بتوان در مدت زمان کوتاه، تعداد زیادی گیاهچه تولید کرد. در افزایش صبرزرد با بذر به دلیل پدیده نرعمیمی و دگرگشتی، افزایش گوناگونی ژنتیکی قابل توجهی در نتایج دیده می‌شود. افزایش رویشی صبرزرد، بیشتر به روش پاجوش است ولی به علت کندی این روش در تولید گیاهچه، بیشتر در سطوح کشت کوچک قابل استفاده است. بنابراین نیاز به مطالعات گسترده بر روی کشت بافت این گیاه احساس می‌شود. البته تکثیر درون شیشه‌ای این گیاه روشی هست که می‌توان به تولید انبوه آن دست یافت (۳۰ تا ۱۰۰ برابر سرعت تکثیر نسبت به پرورش معمولی) و نیاز بازار به این گیاه را تأمین کرد (Keijzer & Cresti, 1987).

Meyer و Vanstaden (۱۹۹۱) طی پژوهشی حداکثر رشد جوانه و ریشه‌دهی شاخه‌ها را روی محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آوردند. همچنین مجموع تعداد شاخساره تولید شده در هر گره بین ۸-۱۲ عدد متغیر بود. در این آزمایش با استفاده از اکسین‌های IAA یا NAA

جدول ۱- روش‌های مختلف ضد عفونی گیاهچه آلوئه‌ورا

ترکیب‌های بکار برده	
الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۲۰ دقیقه) قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ (۲۰ دقیقه) - الکل ۷۰٪	۵
الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۳۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه) قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ (۳۰ دقیقه) - الکل ۷۰٪	۶
الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۳۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه) قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ (۳۰ دقیقه) - الکل ۷۰٪	۷
الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه)	۴

محیط‌ها در ۵/۸ تنظیم شده، عمل سترون‌سازی آنها در اتوکلاو با فشار ۱ اتمسفر و دمای  $121^{\circ}\text{C}$  برای مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. سپس در دستگاه انکوباتور در شرایط دمایی  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. عمل واکشت هر ۴ هفته یک‌بار انجام شد.

کشت ریزنمونه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای پس از انتخاب بهترین تیمار سترون‌ساز، ریزنمونه‌ها به محیط کشت MS کامل با تیمارهای مختلف ذکر شده در جدول ۲ در شیشه‌های مربا ریخته شده و کشت گردید. علاوه بر هورمون‌های یادشده، همه محیط کشت‌ها دارای ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار بودند. pH

جدول ۲- تیمارهای مورد استفاده در آزمایش

BAP (mg/l)	NAA (mg/l)	زغال فعال (g/l)	
۵	۰	۲	A
۴	۰	۲	B
۵	۰/۲	۰	C
۴	۰/۲	۰	D
۰	۰	۰	E

مقاومت بالاتر به محیط گلخانه گیاهچه‌ها در محیط MS حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به مدت ۳۰ روز انتقال داده شد.

پرآوری و ریشه‌زایی تعدادی از گیاهچه‌های کشت شده در محیط‌های مختلف تولید ریشه کردند ولی برای تولید ریشه بیشتر و

طولی کردند ولی اثری از جوانه‌های جانبی دیده نشد. در واکشت‌های سوم (۳ ماه بعد از کشت درون شیشه‌ای) تعداد جوانه‌های جانبی، تعداد برگ و تعداد ریشه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کلیه تیمارها، روی صفت‌های مختلف در سطح ۱٪ معنی‌دار شدند و امکان انتخاب بین این تیمارها وجود دارد (جدول ۴).

همچنین براساس آزمون دانکن (جدول ۵) تیمار A با تولید میانگین ۱۸/۸۸ در صفت جوانه جانبی به ازای هر ریزنمونه در بالاترین سطح پرآوری واقع شد، اما تیمار E از حداقل شاخصاره برخوردار بود. همچنین در تیمار A و B در ۱۰۰٪ نمونه‌ها جوانه جانبی ایجاد شد. این امر نشان‌دهنده اینست که زغال فعال در تولید جوانه جانبی اثر فوق‌العاده‌ای دارد. در تیمارهای هورمونی که از زغال فعال استفاده شده بود مقدار تولید ریشه ناچیز بوده که دلیل آن می‌تواند غلظت بالای هورمون BAP باشد. همچنین تعداد میانگین برگ کمتری داشتند که دلیل آن می‌تواند رشد سریع تعداد جوانه‌های جانبی باشد. محیط‌هایی که در آن از زغال فعال استفاده نشده بود میزان تعداد جوانه جانبی در سطح پایینی قرار داشت و درصد گیاهچه‌هایی که جوانه جانبی ایجاد کرده بودند هم کمتر بود. ولی این محیط‌ها از درصد ریشه‌دهی و تعداد ریشه بیشتری برخوردار بودند (شکل ۱ و ۲).

در مرحله سازگاری، گیاهچه‌های آلوده به میزان ۸۵٪ با محیط بیرون سازگار شدند، قبل از کشت گیاهچه‌های حاصل در شرایط گلخانه، عمل سازگارسازی آنها انجام شد. برای این کار، گیاهچه‌ها در شرایط *in vitro* گلدان‌های سر بسته حاوی خاک برگ استریل شده منتقل شده و به مدت ۱۰ روز نگهداری شد، سپس سرپوش گلدان‌ها برداشته شد (شکل ۱).

سازگاری گیاهان درون شیشه به شرایط گلخانه برای این کار، گیاهچه‌ها در شرایط *in vitro* به گلدان‌های سر بسته حاوی خاک برگ استریل شده منتقل و به مدت ۱۰ روز نگهداری شد، سپس سرپوش گلدان‌ها برداشته شد.

## نتایج

نتایج حاصل از روش‌های مختلف ضد عفونی کردن (جدول ۱) نشان داد که بین روش اول و دوم تفاوتی وجود نداشت و ۹۰٪ گیاهان بعد از سه روز آلودگی قارچی نشان دادند. در روش سوم میزان آلودگی کاهش پیدا کرد ولی بیشتر گیاهان سالم نیز رشدی نداشته و کم‌کم از بین رفتند و فقط ۱۰٪ از گیاهان قابلیت رشد داشتند. در روش چهارم از کلرید جیوه استفاده شد که در این روش در سه روز اول آلودگی دیده نشد ولی بعد از هفت روز ۵۰٪ از گیاهچه‌ها از خود آلودگی قارچی نشان دادند. در روش پنجم با بالا بردن زمان کلرید جیوه آلودگی ایجاد نشد ولی تمام گیاهان آلبینو شده و رشدی نداشتند. در روش ششم از قارچ‌کش هم استفاده شد که در این روش درصد آلودگی به صفر رسید و درصد زنده ماندن ۹۰٪ شد. در روش هفتم زمان قارچ‌کش افزایش یافت ولی در نتیجه تغییر ایجاد نشد. پس با توجه به نتایج بدست آمده روش شماره شش بهترین روش برای ضد عفونی گیاه آلوده‌ها شناخته شد. از این رو به علت کمترین آلودگی بیشترین درصد زنده ماندن گیاه مشاهده گردید (جدول ۳).

پس یافتن بهترین تیمار سترون‌سازی ریزنمونه‌های حاصل از گیاهان موجود در گلخانه به شرایط درون شیشه منتقل گردید و اثر افزودن غلظت‌های مختلف هورمون‌ها و زغال فعال در محیط پایه MS بررسی شد. با گذشت ۳۰ روز از کشت، پاجوش‌ها شروع به رشد

جدول ۳- روش‌های مختلف ضدعفونی گیاهچه آلوئه‌ورا

درصد زنده ماندن	درصد آلودگی	ترکیب‌های بکار برده	
%۱۰	%۹۰	الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه)	۱
%۱۰	%۹۰	الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۳۰ دقیقه)	۲
%۱۰	%۷۰	الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه)	۳
%۴۰	%۵۰	الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه)	۴
.	.	الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۲۰ دقیقه)	۵
%۹۰	.	فارج کش کاربندازیم ۱٪ (۲۰ دقیقه) - الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه)	۶
%۹۰	.	فارج کش کاربندازیم ۱٪ (۳۰ دقیقه) - الکل ۷۰٪ (۳۰ ثانیه) - هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ همراه با توئین ۲۰ (۲۰ دقیقه) - کلرید جیوه ۰/۱٪ (۱۰ دقیقه)	۷

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات

میانگین مربعات						منابع تغییرات
درصد ریشه‌دهی	تعداد ریشه در هر ریز نمونه	تعداد برگ در هر ریز نمونه	درصد تولید جوانه جانبی	تعداد جوانه‌های جانبی	df	S.O.V
۰/۲۹۲ ***	۳/۲۰۴ ***	۰/۶۷۸ ***	۰/۲۲۱ ***	۱۵۹/۳۲۵ ***	۴	تیمار
۰/۰۱۷	۰/۳۸۲	۰/۰۷۹	۰/۰۰۶	۰/۲۷۳	۱۰	اشتباه
۰/۳۰۹	۳/۵۸۶	۰/۷۵۷	۰/۲۲۷	۱۵۹/۵۹۸	۱۴	کل

\*\*\*: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪

جدول ۵- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی با استفاده از آزمون دانکن

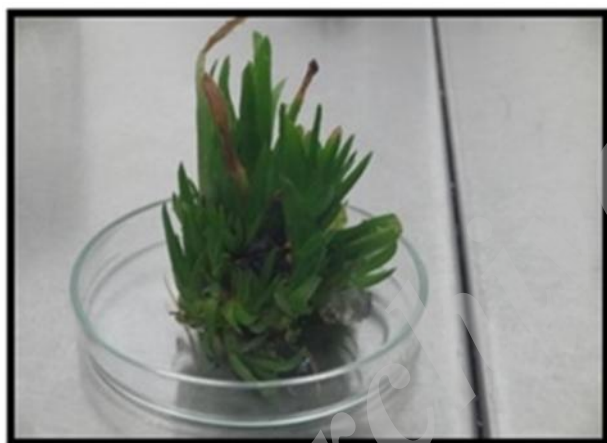
مقایسه میانگین					تیمارها
درصد ریشه‌دهی	تعداد ریشه در هر ریز نمونه	تعداد برگ در هر ریز نمونه	درصد تولید جوانه جانبی	تعداد جوانه‌های جانبی	
۰/۱۰۶۷ c	۰/۶۶۶۷ c	۲/۹۵ b	۱ a	۱۸/۸۸۶۷ a	A
۰/۱۶۳۳ c	۱ c	۳/۳۴ b	۱ a	۷/۶۶ b	B
۰/۴۴۳۳ b	۱/۸۳۳۳ bc	۳/۸۹ a	۰/۷۱۶۷ b	۲/۵۸۳۳ c	C
۰/۵ b	۲/۵۵۳۳ ab	۳/۶۲۶۷ a	۰/۵۵۳۳ c	۲/۰۸۳۳ c	D
۰/۸۸۶۷ a	۳/۱۳۶۷ a	۴/۰۸ a	۰/۳۸۶۷ d	۱/۷۲ c	E



د



الف

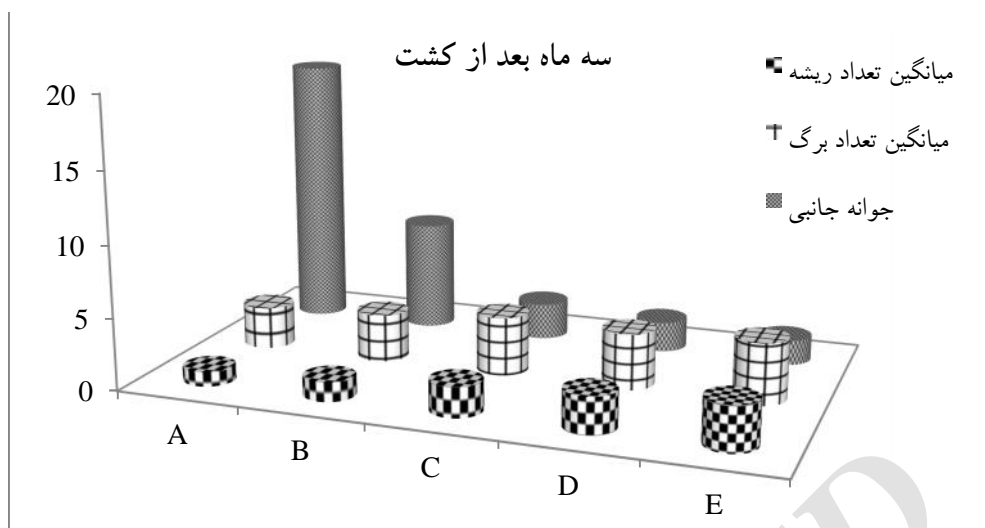


ج



ب

شکل ۱- الف) گیاهچه‌های آلوئه‌ورا در محیط A؛ ب) پاجوش‌های آلوئه‌ورا بعد از دو ماه؛  
ج) پاجوش‌های آلوئه‌ورا بعد از سه ماه؛ د) گیاهچه‌های آلوئه‌ورا در خاک استریل



شکل ۲- مقایسه میانگین (جوانه جانبی، تعداد برگ و تعداد ریشه) در هر ریزنمونه

## بحث

اعلام کردند، به طوری که با افزایش و کاهش در مقدار BAP و NAA از میزان شاخساره کم می‌شد. همچنین میزان جوانه جانبی در محیط MS کامل بدون هورمون را صفر اعلام کردند (Nayanakantha *et al.*, 2010). در تحقیقی که انجام شد بیشترین جوانه جانبی در تیمار MS کامل به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ گرم در لیتر زغال فعال بود؛ و در تیمار هورمونی که از BAP4 به همراه NAA 0.2 استفاده شده بود نتایج Nayanakantha و همکاران (۲۰۱۰) بدست نیامد و در محیط MS بدون هورمون هم مقدار بسیار کم جوانه جانبی دیده شد.

گیاهان بعد از خارج شدن از محیط درون شیشه به گلدان حاوی خاک برگ استریل شده انتقال یافتند. در یک تحقیق انجام شده برای کاشت گیاهچه‌های گیاه آلوئه‌ورا پس از ۳ هفته نگهداری در شیشه به خاک دارای خاک برگ، سیلت و ماسه به نسبت ۱:۱:۲ منتقل شدند (Abdollahzadeh *et al.*, 2006). بدین ترتیب گیاهچه‌های حاصل از کشت درون شیشه‌ای به مدت ۱۰ روز در دمای ۲۵-۲۷ درجه در گلدان سر بسته حاوی خاک برگ نگهداری و پس از آن درپوش‌ها برداشته شد (۸۵٪ از گیاهچه‌ها زنده ماندند). امید است که نتایج این پژوهش در برنامه‌های اصلاحی آینده این گیاه مورد استفاده قرار گیرد.

برای ضد عفونی کردن گیاه آلوئه‌ورا Saggio و Kaur (۲۰۱۰) از کاربندازیم ۱٪ به مدت ۲۰ دقیقه و کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ۵ تا ۷ دقیقه استفاده کردند. همچنین Natali و همکاران (۱۹۹۰) از اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلرید سدیم ۹٪ به مدت ۷ دقیقه استفاده کردند. Kumar و همکاران (۲۰۱۱) روش ضد عفونی را استفاده از قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ به مدت یک ساعت ساولن ۱٪ به مدت ۲ دقیقه اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ۵ دقیقه اعلام کردند. HamidOghli و همکاران (۲۰۰۵) هم ضد عفونی با محلول ۲۰٪ شوینده ۵٪ هیپوکلریت سدیم خالص به مدت ۱۵ دقیقه اعلام کردند. در تحقیقی که بر روی ضد عفونی این گیاه انجام دادیم بهترین روش ضد عفونی استفاده از قارچ‌کش کاربندازیم ۱٪ به مدت ۲۰ دقیقه، الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه، هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ به مدت ۲۰ دقیقه و کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ۱۰ دقیقه بود؛ که با نتایج Saggio و Kaur (۲۰۱۰) و Kumar و همکاران (۲۰۱۱) نزدیک بوده و مطابقت داشت. همچنین Nayanakantha و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی که انجام دادند، بهترین تیمار هورمونی برای ایجاد جوانه جانبی را تیمار هورمونی BAP4 به همراه NAA 0.2

## منابع مورد استفاده

- Natali, L., Sanchez, I.C. and Cavallini, A., 1990. *In vitro* culture of *Aloe barbadensis* Mill.: Micropropagation from vegetative meristems. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 20: 71-74.
- Nayanakantha, N.M.C., Singh, B.R. and Kumar, A., 2010. Improved culture medium for micropropagation of *Aleo vera* L. *Tropical Agricultural Research & Extension*, 13(4): 87-93.
- Saggoo, M.I. and Kaur, R., 2010. Studies in North Indian *Aloe vera*: callus induction and regeneration of plantlets. *Scholars Research Library*, 2(2): 241-245.
- Supe, U.I., 2007. *In vitro* regeneration of *Aloe barbadensis*. *Biotechnology*, 6(4): 601-603.
- Williams, M.S., Burk, M., Loprinzi, C.L., Hill, M., Schomberg, P.J., Nearhood, K., O'Fallon, J.R., Laurie, J.A., Shanahan, T.G., Moore, R.L., Urias, R.E., Kuske, R.R., Engel, R.E. and Eggleston, W.D., 1996. Phase III double-blind evaluation of an *Aloe vera* gel as a prophylactic agent for radiation-induced skin toxicity. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics*, 36(2): 345-349.
- Yazdani, D., Rezaei, M.B., Kianbakht, S. and Khosravani, S., 2006. A review of various aspects of medicinal *Aloe Vera* L. *Journal of Medicinal Plants*, 5(19): 1-8.
- Yin, C. and Xu, C., 1998. Effect of aloe-emodin on proliferation of vascular smooth muscle cells after arterial injury. *Zhongguo Zhong Xi Yi Jie He Za Zhi*, 18(7): 420-422.
- Yongchaiyudha, S., Rungpitarangsi, V., Bunyaphatsara, N. and Chokechajaroenporn, O., 1996. Antidiabetic activity of *Aloe vera* L. juice. I. Clinical trial in new cases of diabetes mellitus. *Phytomedicine*, 3(3): 241-243.
- Ziaee, S., Mesgarpur, B. and Shabestary, A., 2005. *Caution and Herb-Drug Interactions Based on Evidence*. Timorzadeh Publisher, Iran, 466p.
- Abdollahzadeh, N., Daneshvar, M.H. and Moallemi, N., 2006. *In vitro* callus induction and plantlet regeneration of *Aloe*. *Iranian Journal of Horticultural science and technology*, 7(2): 77-92.
- Chow, J.T., Williamson, D.A., Yates, K.M. and Goux, W.J., 2005. Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe vera* L. *Carbohydrate Research*, 340: 1131-1142.
- Cole, L. and Heard, C., 2007. Skin permeation enhancement potential of *Aloe vera* and a proposed mechanism of action based up on size exclusion and pull effect. *International Journal of Pharmaceutics*, 333: 10-16.
- HamidOghli, Y., Fatahi Moghadam, J. and Fotouhi Ghazvini, R., 2005. *In vitro* propagation of medicinal plant *Aloe (Aloe barbadensis* Mill.). *Iranian Journal of Agricultural Science*, 36(4): 903-909.
- Karimi, H., 2010. *Aloe vera*. *Agricultural Sciences*, Iran, 64p.
- Keijzer, C. and Cresti, M., 1987. A comparison of anther tissue development in male sterile *Aloe vera* and male fertile *Aloe ciliaris*. *Annals of Botany*, 59(5): 533-542.
- Kumar, M., Singh, S. and Singh, S., 2011. *In vitro* morphogenesis of a medicinal plant *Aloe vera* L. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 1(1): 31-40.
- Meyer, H.J. and Vanstaden, J., 1991. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 26(3): 167-171.
- Mousavi, F. and Esteki, M., 2010. *Aloe vera* Plant Thousands Treatment: Planting, Harvesting and Medicinal Properties-Health. Publications Nasouh, Iran, 98p.
- Mukherjee, A. and Roychowdhury, B., 2008. The *in vitro* propagation of *Aloe vera* sp. *TIG Research Journal*, 1(2): 116-119.



## Effects of growth regulators and activated charcoal on *in vitro* propagation of *Aloe vera* L.

S. Shamsian<sup>1\*</sup>, M. Omid<sup>2</sup> and S. Torabi<sup>3</sup>

1\*- Corresponding author, MSc. Student, Department of Plant Breeding, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran, E-mail: sam.sh983@yahoo.com

2- College of Agriculture and Natural Resources of Tehran University, Karaj, Iran

3- Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

Received: October 2014

Revised: April 2015

Accepted: April 2015

### Abstract

*Aloe (Aloe vera L.)* is one of the most valuable plants in the pharmaceutical, cosmetic, food and health industries. Due to the growing need for this plant, extensive research has been done on *in vitro* culture. *In vitro* propagation of this plant is a convenient and efficient way for the massive proliferation and the use of secondary metabolites. In this study, the best method of sterilization for the explants derived from *Aloe vera* seedlings and the effects of growth regulators BAP, NAA, and activated charcoal were investigated. The experiment was based on a completely randomized (CRD) design with 3 replications and 5 treatments. BAP at concentrations of 5 and 4 mg per liter, NAA at 0.2 mg per liter, and activated charcoal at 2 grams per liter were used in the MS-medium to induce the lateral buds of seedlings. Fungicide carbendazim 1% (20 min.), alcohol 70% (30 seconds), sodium hypochlorite 2.5% (20 min.), mercuric chloride 0.1% (10 minutes) was identified as the best protocol. In addition, MS-medium with 5 mg/L BAP and 2 grams per liter of activated charcoal was known to be the best environment to induce the lateral buds. The buds obtained in the MS-medium containing 2.0 ppm NAA were rooted and 85% of cuttings survived in the greenhouse.

**Keywords:** *Aloe vera* L., plant growth regulators, lateral buds, micro propagation, activated charcoal.