اثر غلظت‌های مختلف نفتالین استیک اسید و کینتین بر ریزازدیادی گیاه زینتی شب‌بو (*Matthiola incana*)

بهزاد کاویانی*[۱]، افشین احمدی حصار[۲]، علی‌رضا ترنگ[۳]، سحر بهلولی زنجانی[٤]، داود هاشم‌آبادی[۱]

[۱] استادیار، گروه باغبانی دانشگاه آزاداسلامی، واحد رشت، رشت، ایران

[۲] کارشناس‌ارشد، گروه باغبانی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، رشت، ایران

[۳] استادیار، مرکز بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور، رشت، ایران

[٤] کارشناس ارشد، مرکز بیوتکنولوژی کشاورزی شمال کشور، رشت، ایران

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۱۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۵/۱۷

چکیده

یکی از گسترده‌ترین فنون کشت بافت، ریزازدیادی است. ریزازدیادی، فن مؤثری در تکثیر گیاهان زینتی عاری از عوامل بیماری‌زا در مقیاس وسیع است. نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی از عوامل بسیار مهم ریز ازدیادی گیاهان در شرایط درون شیشه‌ای است. شب‌بو (*Matthiola incana*) یک گیاه زینتی است که مطالعه کمی بر روی ریزازدیادی آن انجام شده است. هدف از این پژوهش، بررسی اثر غلظت‌های مختلف نفتالین استیک اسید و کینتین بر ریزازدیادی گیاه شب‌بو بود. دانه‌های به‌دست‌آمده از گیاه مادری، بر روی محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS)، بدون هورمون جوانه زدند. سرشاخه‌های حاصل، بر روی محیط کشت MS حاوی غلظت‌های ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و کینتین، برای تکثیر قرار داده شدند. طرح آزمایشی، طرح بلوک‌های کامل تصادفی بود. نتایج نشان دادند که بیشترین طول شاخساره در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین (فاقد نفتالین استیک اسید) حاصل شد. ریزنمونه جوانه، در محیط کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین (فاقد نفتالین استیک اسید)، بیشترین تعداد گره را تولید کرد. بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (فاقد کینتین) تولید شد. بلندترین طول ریشه در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به‌دست آمد. همچنین بالاترین وزن تر در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، بالاترین وزن خشک در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و بیشترین شاخص کلروفیل در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین به دست آمدند. نتیجه مطالعه ما نشان داد که استفاده از غلظت‌های مناسب نفتالین استیک اسید و کینتین باعث تکثیر سریع تر شب‌بو در شرایط درون شیشه‌ای می‌شود.

واژگان کلیدی: تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، رشد، ریزازدیادی، شب‌بو

مقدمه

شب‌بو (*Matthiola incana*) یکی از گونه‌های زینتی و دارویی خانواده کلم (Brassicaceae) است که گل‌هایی به رنگ‌های متنوع آبی، سفید، قرمز و بنفش دارد (خوشخوی، ۱۳۷۳). یکی از بزرگ‌ترین معایب تکثیر سنتی شب‌بو، بازده کم آن است. بنابراین، بسیاری از گیاهان زینتی با فنون ریزازدیادی، تکثیر می‌شوند. این فنون، به‌ویژه برای تکثیر سریع رقم‌های

*مسئول مکاتبه: b.kaviani@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

جدید و گسترش نگهداری و تولید گیاهان، مواد اولیه‌ی افزایشی که از نظر ویروسی مورد آزمایش قرار گرفته‌اند، ارزشمند می‌باشد (صباغ‌زاده و همکاران، ۱۳۸۹). ریزازدیادی، فن مؤثری در تکثیر گیاهان زینتی در مقیاس وسیع است. برای توسعه تجارت گل‌های شاخه بریده در سطح جهانی، روش‌های جدیدی به‌کار گرفته می‌شوند. این روش‌ها بر اساس سطوح بهینه‌ی کربوهیدرات، ترکیبات آلی، مواد معدنی، عوامل محیطی و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بوده و مقادیر بالایی از باززایی را در شرایط درون شیشه‌ای پدید آورده‌اند (خوشخوی، ۱۳۷۳). بنابراین، استفاده از روش ریزازدیادی، یکی از راه‌های دستیابی به تعداد زیادی نشای شب‌بو با ساختار ژنتیکی یکسان و کاهش هزینه‌های تولید می‌باشد و امکان تولید مداوم و سریع را نیز در پی دارد (Nhut, 2003). مطالعه بر روی ریزازدیادی گیاه شب‌بو بسیار اندک است. Hosoki و Ando (۱۹۸۹)، باززایی گیاهچه‌های شب‌بو را از کشت پروتوپلاست در محیط حاوی بنزیل آمینوپورین (BAP)، تو-فور-دی (2,4-D) و نفتالین‌استیک اسید (NAA) نشان دادند. Gautum و همکاران (۱۹۸۳) نیز با کشت لپه در محیط حاوی BAP و NAA، باعث جوانه‌زنی شب‌بو شدند. با توجه به مطالعه‌ی اندک بر روی ریزازدیادی این گونه، هدف از این پژوهش بررسی اثر غلظت‌های مختلف NAA و کینتین (KIN) بر روی ریزازدیادی شب‌بو در شرایط درون شیشه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

بذر گیاه شب‌بو (*Matthiola incana*) از بانک ژن دانشگاه محقق اردبیلی تهیه شد. برای سترون‌سازی، بذرها به‌مدت ۱۰ دقیقه درون ظرف آب حاوی چند قطره مایع ظرفشویی، قرار داده شدند. بعد از آن، ۳ تا ٤ بار با آب جاری، آبکشی شدند. سپس جهت ضدعفونی سطحی بذر، از اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۲ دقیقه و محلول هیپوکلریدسدیم ۲۰ درصد به مدت ۱۰ دقیقه استفاده شد. جهت تماس بیشتر محلول ضدعفونی‌کننده با سطح نمونه گیاهی، یک یا دو قطره توین ۲۰ داخل محلول هیپوکلریدسدیم، ریخته شد. سپس بذرها توسط آب مقطر استریل، ۳ الی ٤ بار آبکشی شدند. بعد از آن، داخل هر یک از شیشه‌های حاوی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (Murashige and Skoog, 1962)، ٦ عدد بذر کشت شد. پس از اتمام کشت، درب شیشه‌ها با نایلون و کش کاملاً مسدود گردید. شیشه‌های حاوی بذر، به اتاق کشت با دوره‌ی نوری ۱۲ ساعت با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و دمای ۲±۲۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. بعد از یک هفته، بذرها جوانه زده و پس از ٤ هفته، گیاهچه‌های تولید شده به‌عنوان منبع گیاهی استریل، برای ادامه‌ی آزمایش‌ها، مورد استفاده قرار گرفتند. از جوانه‌های رأسی دانه رست‌های شب‌بوی کشت شده در ظرف‌های کشت، برای ریزازدیادی استفاده شد. به این منظور، ابتدا محیط‌های کشت MS حاوی غلظت‌های مختلف NAA و KIN (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) آماده گردید. سپس محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ اتمسفر به‌مدت ۲۰ دقیقه استریل شدند. ٤-۳ جوانه حاصل از بذرهای جوانه‌زده، در هر شیشه کشت، قرار داده شدند. پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت، شیشه‌ها، برچسب زده شدند. ظرف‌های کشت در اتاقک رشد (ژرمیناتور) با دمای ۲٤ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۸۰-۷۰ درصد و دوره نوری ۱۲ ساعته قرار داده شدند. پس از انتقال ریزنمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد، کنترل روزانه به‌منظور بررسی تغییرات در رشد و نمو و باززایی نمونه‌ها انجام گرفت. ٤ هفته پس از مرحله استقرار، اولین نشانه‌های باززایی مشاهده شد. در هفته چهارم،

Archive of SID

www.SID.ir

طول شاخساره و تعداد گره اندازه‌گیری شدند و پس از اتمام هفته ششم، به‌منظور ارزیابی تیمارهای آزمایشی، صفاتی از قبیل طول ریشه، تعداد ریشه، وزن تر، وزن خشک و شاخص کلروفیل نیز اندازه‌گیری شدند. شاخص کلروفیل برگ‌ها، توسط کلروفیل‌متر مدل SPAD-502 ساخت شرکت Minolta ژاپن اندازه‌گیری شد. آزمایش به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با آرایش فاکتوریل با دو فاکتور غلظت‌های مختلف NAA و KIN، هر کدام در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) انجام گرفت. سپس با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS تجزیه‌ی واریانس داده‌ها و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد. از رویه همبستگی نیز برای محاسبه ضرایب همبستگی ساده بین صفات، استفاده گردید. در ادامه، با استفاده از نرم‌افزارEXCEL نسبت به رسم نمودارها، اقدام شد.

نتایج

یک هفته بعد از کشت، بذرها جوانه زده و پس از ٤ هفته، گیاهچه‌های تولیدشده، به‌عنوان منبع گیاهی استریل، برای ادامه‌ی آزمایش‌ها، مورد استفاده قرار گرفتند (شکل ۱). ٤ هفته پس از مرحله استقرار، اولین نشانه‌های باززایی مشاهده شد (شکل ۱). از جوانه‌ها، به‌عنوان ریزقلمه استفاده شد. مقایسه میانگین صفات (جدول ۱) نشان داد که بیشترین طول شاخساره شب‌بو، مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN بدون NAA با میانگین ۱/۱٦ سانتی‌متر در گیاه بود. کمترین طول شاخساره، در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر KIN و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۰/۳٦٤ سانتی‌متر در گیاه به‌دست آمد. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل NAA و KIN بر طول شاخساره در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین صفات (جدول ۱) نشان داد که بیشترین میانگین تعداد گره، مربوط به تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر KIN (بدون NAA) با میانگین ٤/٦٤ عدد در گیاه بود. کمترین تعداد گره مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA می‌باشد.

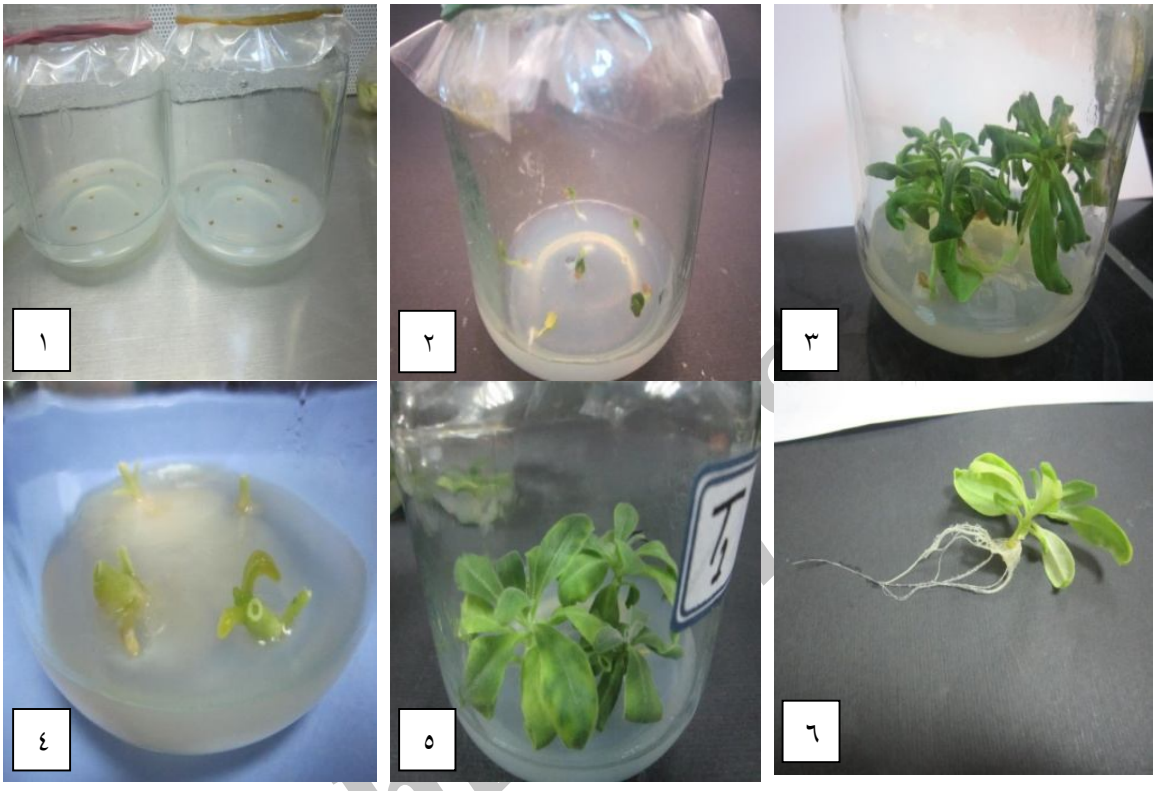
در آزمایش حاضر، اثر متقابل NAA و KIN بر تعداد گره در سطح یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل NAA و KIN بر تعداد ریشه نشان داد که بیشترین تعداد ریشه مربوط به تیمار سطح صفر KIN با سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۱/۸ در گیاه و کمترین آن مربوط به تیمار سطح صفر KIN و سطح ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۰/۲۱ در گیاه بود.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل NAA و KIN بر طول شاخساره در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). به لحاظ آماری، بین تیمار سطح صفر KIN با تیمار سطح ۲ میلی‌گرم در لیتر و سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف NAA و KIN نشان داد که تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بین سطوح مختلف این دو هورمون وجود دارد و نیز اثر متقابل NAA و KIN بر طول ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). مقایسه‌ی میانگین اثر متقابل NAA و KIN بر طول ریشه (جدول ۱) نشان می‌دهد که بالاترین طول ریشه مربوط به تیمار سطح ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN با میانگین ۵/۲ سانتی‌متر در گیاه و کمترین آن مربوط به تیمار شاهد با میانگین ٤۱/. سانتی‌متر در گیاه می‌باشد. همبستگی ساده‌ی تاثیر NAA و KIN بر صفات شاخص کلروفیل، وزن خشک، وزن تر، طول ریشه، تعداد ریشه، تعداد گره و طول شاخساره در جدول ۳ ارایه شده است. نتایج همبستگی (جدول ۳) نشان داد که طول شاخساره با تعداد گره (r=۰/۸۵۵)

Archive of SID

www.SID.ir

و وزن خشک (r=۰/٦٤١) دارای همبستگی مثبت و معنی‌دار است. تعداد ریشه نیز با کلروفیل و طول ریشه همبستگی مثبت و معنی‌داری دارد. سبزینگی (کلروفیل) با تعداد ریشه، طول ریشه، وزن تر و وزن خشک همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان می‌دهد، ولی با تعداد گره و طول شاخساره، این همبستگی مثبت و معنی‌دار نبود.



شکل ۱. مراحل ریزازدیادی گیاه شب‌بو. ۱- بذرهای کشت شده در محیط بدون هورمون. ۲- جوانه زنی بذرهای کشت شده بعد از یک هفته کشت. ۳- جوانه‌زنی بذرهای کشت شده چهار هفته بعد از کشت. ٤- مریستم‌های جدا شده از دانه‌رست‌ها و کشت آنها در محیط حاوی هورمون‌های NAA و KIN. ٥- نشانه‌های باززایی چهار هفته بعد از کشت. ٦- یک گیاهچه‌ی تولید شده.

www.SID.ir

جدول ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل کینتین و نفتالین استیک اسید بر صفات اندازه‌گیری شده.

هورمون‌ها (میلی‌گرم بر لیتر)		طول شاخساره (سانتی‌متر)	تعداد گره	تعداد ریشه	طول ریشه (سانتی‌متر)	وزن تر (گرم)	وزن خشک (گرم)	شاخص کلروفیل
KIN 0	NAA 0	۰/۶۹۲^{cdefg}	۲/۱۶^{efg}	۰/۳۶۰^{cd}	۰/۴۱۰^{d}	۰/۷۴۰^{b}	۰/۰۷۷۲^{c}	۳۴/۱۶۰^{abcd}
KIN 0	NAA 0.5	۰/۷۶۴^{bcdef}	۲/۲۴۰^{defg}	۰/۲۱۰^{d}	۰/۵۳۰^{d}	۰/۹۵۰^{ab}	۰/۰۹۴^{b}	۳۵/۶۵۰^{abc}
KIN 0	NAA 1	۰/۹۴۰ ^{abc}	۲/۶۴۰^{cde}	۱/۲۴۰^{abc}	۱/۳۶۰^{cd}	۱/۰۱۰^{ab}	۰/۱۰۲^{a}	۱۹/۳۴۰^{ef}
KIN 0	NAA 2	۰/۹۴۸ ^{abc}	۳/۰۸۰^{bc}	۱/۸۵۰^{a}	۳/۲۴۰^{b}	۱/۰۱۰^{ab}	۰/۰۹۹^{ab}	۴۵/۶۸۰^{a}
KIN 0.5	NAA 0	۰/۹۱۶^{abcd}	۳/۲۰۰^{bc}	۰/۵۶۰^{cd}	۰/۷۲۰^{cd}	۰/۵۲۰^{b}	۰/۰۵۴^{h}	۲۶/۲۲۰^{cde}
KIN 0.5	NAA 0.5	۰/۷۰۰^{cdefg}	۲/۰۰۰^{efgh}	۰/۳۶۰^{cd}	۱/۰۴۰^{cd}	۰/۷۳۰^{b}	۰/۰۷۴^{cd}	۲۸/۰۳۰^{cde}
KIN 0.5	NAA 1	۰/۳۶۴^{h}	۱/۳۶۰^{h}	۰/۴۰۰^{d}	۰/۵۰۰^{d}	۰/۱۹۰^{b}	۰/۰۲۱۶^{i}	۱۰/۰۸۰^{f}
KIN 0.5	NAA 2	۰/۶۴۸^{defg}	۲/۵۶۰^{cdef}	۰/۷۶۰^{bcd}	۲/۰۰۰^{bc}	۰/۶۱۰^{b}	۰/۰۶۲^{fg}	۳۸/۸۸۰^{abc}
KIN 1	NAA 0	۰/۸۹۲^{abcd}	۳/۵۶۰^{b}	۰/۶۸۰^{cd}	۱/۰۸۰^{cd}	۰/۵۷۰^{b}	۰/۰۵۷^{gh}	۲۹/۸۶۰^{cde}
KIN 1	NAA 0.5	۰/۵۸۴^{efgh}	۱/۸۰۰^{fgh}	۱/۶۰۰^{ab}	۲/۲۸۸^{bc}	۱/۶۹۰^{a}	۰/۰۶۵^{ef}	۴۳/۴۶۰^{ab}
KIN 1	NAA 1	۰/۴۷۲^{gh}	۱/۶۴۰^{gh}	۰/۴۰۰^{d}	۱/۲۰۰^{d}	۰/۵۸۰^{b}	۰/۰۵۸^{gh}	۳۲/۳۳۰^{bcde}
KIN 1	NAA 2	۱/۰۰۰^{ab}	۲/۹۶۰^{bcd}	۰/۷۲۰^{bcd}	۱/۲۸۰^{cd}	۰/۹۶۰^{ab}	۰/۰۹۷^{ab}	۳۱/۱۹۰^{bcde}
KIN 2	NAA 0	۱/۱۶۶^{a}	۴/۶۴۰^{a}	۰/۴۴۰^{cd}	۰/۸۰۰^{cd}	۰/۶۷۰^{b}	۰/۰۶۸^{def}	۲۱/۲۸۰^{def}
KIN 2	NAA 0.5	۰/۸۵۲^{bcde}	۲/۴۴۰^{cdef}	۰/۲۰۰^{d}	۰/۵۴۰^{d}	۰/۷۰^{b}	۰/۰۷۱^{cde}	۲۰/۰۲۰^{ef}
KIN 2	NAA 1	۰/۵۲۸^{fgh}	۱/۸۴۰^{fgh}	۱/۸۰۰^{a}	۵/۲۰۰^{a}	۰/۵۵۰^{b}	۰/۰۵۶^{gh}	۴۶/۸۳۰^{a}
KIN 2	NAA 2	۰/۸۹۲^{abcd}	۲/۹۶۰^{bcd}	۰/۸۰۰^{bcd}	۱/۴۰۰^{cd}	۰/۷۹۰^{b}	۰/۰۷۵^{cd}	۳۴/۴۹۰^{abc}

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون با هم اختلاف معنی‌داری از نظر آماری ندارند.

جدول ۲. تجزیه واریانس تاثیر کینتین و نفتالین استیک اسید بر صفات اندازه‌گیری شده.

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول شاخساره	تعداد گره	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن‌تر	وزن خشک	شاخص کلروفیل
KIN	۳	۰/۱۷۴**	۱/۶۸**	۰/۷۶۸ ^{ns}	۳/۴۵۰**	۰/۸۸۷^{ns}	۰/۰۰۵۴**	۲۹۸/۱۲*
NAA	۳	۰/۴۷۶**	۹/۷۸۱**	۱/۱۱۶*	۶/۶۰۸**	۰/۸۱۴^{ns}	۰/۰۰۲۴**	۴۵۴/۵۹**
KIN × NAA	۹	۰/۱۷۲**	۱/۹۰۴**	۲/۴۶۸**	۱۲/۱۰۶**	۰/۳۲۱^{ns}	۰/۰۰۰۹**	۶۱۰/۳۸**
خطا	۶۴	۰/۰۳۷	۰/۲۹۸	۰/۴۰۲	۱/۳۳۵	۰/۳۸۴	۰/۰۰۰۳۴	۱۰۰/۵۴
CV (%)		۲۵/۱۷	۲۱/۲۶	۹/۶	۷/۰۳	۲۰/۸۹	۲۶/۲۱	۳۲/۲۴

** و * به‌ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد، ns: بی‌معنی

جدول ۳. همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده.

صفات	طول شاخساره	تعداد گره	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن تر گیاه	وزن خشک گیاه	شاخص کلروفیل
طول شاخساره	۱/۰۰۰						
تعداد گره	۰/۸۵۵**	۱					
تعداد ریشه	۰/۱۳۴^{ns}	۰/۱۱۵^{ns}	۱				
طول ریشه	۰/۰۲۹^{ns}	۰/۰۳۵^{ns}	۰/۸۷۱**	۱			
وزن تر گیاه	۰/۱۹۴^{ns}	۰/۰۷۹^{ns}	۰/۳۶۱*	۰/۲۴۱*	۱		
وزن خشک گیاه	۰/۶۴۱**	۰/۳۸**	۰/۲۷۷*	۰/۱۵۷^{ns}	۰/۳۷۰*	۱	
شاخص کلروفیل	۰/۰۳۹^{ns}	−۰/۰۰۳^{ns}	۰/۴۳۳**	۰/۴۷۷**	۰/۳۱۷*	۰/۲۲۵*	۱

** و * به‌ترتیب معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

Archive of SID

www.SID.ir

بحث

نتایج این پژوهش نشان داد که غلظت‌های مختلف کینتین بر روی افزایش طول شاخساره و تعداد گره تاثیر داشته است. سیتوکینین‌ها معمولاً در محیط‌های کشت ریزازدیادی، برای تکثیر سرشاخه استفاده می‌شوند (Jain and Ochatt, 2010). همانند یافته‌های این تحقیق، بسیاری از محققان نشان دادند که KIN، تشکیل و رشد طولی سرشاخه را تحریک می‌کند (Luo et al., 2009; Gomes et al., 2010) و Gomes و همکاران (۲۰۱۰) دریافتند که KIN در تحریک رشد سرشاخه‌ی آربوتوس (*Arbutus unedo* L.) نسبت به سایر سیتوکینین‌ها موثرتر بود. در مطالعه حاضر، بالاترین میزان تولید سرشاخه وقتی به‌دست آمد که سرشاخه‌ها بر روی محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN بدون NAA کشت شدند. این نتیجه، یافته‌های Gomes و همکاران (۲۰۱۰) را تایید می‌کند. این محققان نشان دادند که NAA قادر به اصلاح میزان تکثیر نیست و بهترین نتیجه بر روی محیط‌های کشت بدون NAA به‌دست آمد. برخی گونه‌ها به غلظت پایین اکسین همراه با غلظت‌های بالای سیتوکینین برای افزایش تکثیر سرشاخه، نیاز دارند (Van Staden, 2008). برخلاف نتایج ما، Fuller و Fuller (۱۹۹۵) نشان دادند که بیشترین درصد شاخه (۸۸/۳ درصد) در کلم (*Brassica* spp.) در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA همراه با ٤ میلی‌گرم بر لیتر KIN به‌دست آمد. همانند نتیجه‌ی حاصل از مطالعه حاضر، مطالعه‌ی تاتاری رنوسفادرانی و همکاران (۲۰۰۹) بر روی ریزازدیادی ژربرا (*Gerbera jamesonii*) با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف نشان دادند که بیشترین طول گیاهچه در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر KIN به‌دست آمد. برخلاف نتایج ما، مطالعه بر روی بامبو (*Bambusa arundinacea*) نشان داد که بالاترین درصد تکثیر در محیط بدون KIN مشاهده شد (Nayak et al., 2010).

یافته‌های ما نشان می‌دهند که افزایش NAA به محیط‌های کشت، برای افزایش تعداد و طول ریشه‌ها موثر است. برخی مطالعات، اثر مثبت NAA را بر روی ریشه‌زایی نشان داده‌اند (Lee-Epinosa et al., 2008; Jain and Ochatt, 2010).

ریشه‌زایی، یک مرحله بحرانی برای موفقیت ریزازدیادی است. بدون سیستم ریشه‌ای کارآمد، سازگاری گیاه دچار مشکل می‌شود و مقدار تکثیر تحت تاثیر قرار می‌گیرد. مطالعات ما، تاثیر مثبت KIN را بر روی تولید و طول ریشه نشان می‌دهد. بیشترین تعداد ریشه، در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN به‌دست آمد. همچنین بلندترین طول ریشه در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN به‌دست آمد. برخی مطالعات، تاثیر مثبت سیتوکینین‌ها را روی ریشه‌زایی نشان داده‌اند (Gomes et al., 2010). برخلاف نتایج ما، تشکیل ریشه‌ی سوسن (*Lilium* sp.)، در محیط کشت حاوی BA صورت گرفت (Han et al., 2004). همچنین Fuller و Fuller (۱۹۹۵) نشان دادند که باززایی گیاهچه و درصد ریشه‌زایی (٦٥ درصد) در کلم در محیط کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بدون KIN به‌دست آمد. مطابق نتایج ما، کمترین ریشه‌زایی بامبو در محیط بدون KIN مشاهده شده است (Nayak et al., 2010). مطالعه Gautum و همکاران (۱۹۸۳) بر روی ریزازدیادی گیاه شب‌بو به کمک محور زیر لپه نشان داد که ترکیبی از هورمون‌های سیتوکینین و اکسین با یکدیگر تضاد دارند و فقط باعث تشکیل کالوس می‌شوند. مروری بر تحقیقات انجام شده به‌طور واضح تاثیر منفی

Archive of SID

www.SID.ir

سیتوکینین‌ها را روی ریشه‌زایی شاخساره‌ها نشان می‌دهد (Van Staden, 2008). مطالعات ما نقش مثبت کینتین را روی ریشه‌زایی نشان می‌دهد. در تأیید نتایج حاضر، در گیاه زینتی گل آهار (*Zinnia* sp.) بیشترین افزایش طول ریشه در غلظت ۲ میکرومولار هورمون کینتین گزارش شده است (محمودزاده و همکاران، ۱۳۸۹). Gautum و همکاران (۱۹۸۳) از ریزنمونه‌های سوماتیکی شب‌بو در محیط‌کشت MS، گیاهچه باززایی کردند. همچنین مقدار ۱ و ٤ میلی‌گرم در لیتر NAA باعث ریشه‌زایی شاخساره‌ها شده است. در مطالعه‌ای روی کشت درون شیشه‌ای گل ارکیده، NAA رشد ریشه را تحریک کرد (Kalimuthu et al., 2007). بر اساس نظر Hartmann و همکاران (۱۹۹۷)، اکسین‌ها بیشتر برای ریشه‌زایی و نه برای رشد مداوم استفاده می‌شوند. مطالعات ما نشان داد که NAA روی ریشه‌زایی و طول شاخساره تاثیر مثبتی دارد. نتایج بررسی‌های حاضر نشان داد که محیط کشت حاوی غلظت‌های مختلف NAA و KIN باعث تشکیل شاخساره و ریشه در محیط‌های کشت شب‌بو می‌شود.

از نقطه‌نظر فیزیولوژیکی، نتایج به‌دست‌آمده در تحقیق حاضر، در ارتباط با نقش اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها در شاخه‌زایی و ریشه‌زایی با نقش شناخته‌شده این تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هماهنگی دارد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج بررسی‌های ما نشان داد که بیشترین طول شاخساره و بیشترین تعداد گره در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر KIN حاصل شد. بنابراین حضور غلظت بهینه‌ی KIN به‌تنهایی برای شاخه‌زایی مناسب ریزنمونه‌ی جوانه کافی است. همچنین بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید شد. بنابراین حضور غلظت بهینه NAA به‌تنهایی برای ریشه‌زایی مناسب سرشاخه‌ها کافی است.

سپاسگزاری

از تمامی کارکنان مرکز بیوتکنولوژی شمال کشور (رشت) تشکر می‌کنیم.

منابع

تاتاری ورنوسفادرانی، م.، عسکری رابری، ن. و نصرتی، س.ض. (۱۳۸۸). بهینه‌سازی کشت درون شیشه‌ای برای ژربرا رقم Tropic Blend. مجله به‌زراعی نهال و بذر. جلد ۲۵. شماره ٤. صفحات ٤۰۱-۳۸۹.

خوشخوی، م. (۱۳۷۳). ازدیاد نباتات (ترجمه). چاپ دوم. جلد ۱. انتشارات دانشگاه شیراز. صفحه۷۷٦.

صباغ‌زاده، ن.، آل‌ابراهیم، م. و وجودی، م. (۱۳۸۹). ریزازدیادی گیاهان زینتی و دارویی. صفحات۱-۸.

محمودزاده، ه.، عباسی، ف. و روحانی، ش. (۱۳۸۹). بررسی اثر غلظت‌های مختلف هورمون سیتوکنین بر ریزازدیادی گل آهار (*Zinnia elegansthumbelina*) در شرایط درون شیشه‌ای (*In vitro*). فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان. جلد ۳. شماره ۲.صفحات ٦۵-٦۱.

Fuller, M.P. and Fuller, F.M. (1995). Plant tissue culture using *Brassica* seedlings. Journal of Biological Education. 20 (1): 53-59.

Gautam, K.V., Mittal, A., Nanda, K. and Gupta, C.S. (1983). *In vitro* regeneration of plantlets from somatic explants of *Matthiola incana*. Plant Science Letter. 29 (1): 25-32.

Gomes, F., Simões, M., Lopes, M.L. and Canhoto, M. (2010). Effect of plant growth regulators and genotype on the micropropagation of adult trees of *Arbutus unedo* L. (strawberry tree). New Biotechnology. 27 (6): 882-892.

Han, B.H., Yu, H.J., Yae, B.W. and Peak, K.Y. (2004). *In vitro* micropropagation of

Archive of SID

www.SID.ir

Lilium longiflorum 'Georgia' by shoot formation as influenced by addition of liquid medium. Scientia Horticulture. 103: 39-49.

Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davis, F.T. and Genere, R.L. (1997). Plant Propagation: Principles and Practices. (6th ed.). Prentice Hall International. INC, USA. 40-46.

Hosoki, T. and Ando, M. (1989). Protoplast culture and plantlet regeneration in stock (*Matthiola incana* R. Br.). Plant Tissue Culture Letter. 6 (3): 144-147.

Jain, S.M. and Ochatt, S.J. (2010). Protocols for *in vitro* propagation of ornamental plants. Springer Protocols, Humana Press.

Kalimuthu, K., Senthilkumar, R. and Vijayakumar, S. (2007). *In vitro* micropropagation of orchid, *Oncidium* sp. (Dancing Dolls). African Journal of Biotechnology. 6 (10): 1171-1174.

Lee-Epinosa, H.E., Murguia-Gonzalez, J., Garcia-Rosas, B., Cordova-Contreras, A.L., and Laguna, C. (2008). *In vitro* clonal propagation of vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews). Horticulture Science. 43: 454-458.

Luo, J.P., Wawrosch, C. and Kopp, B. (2009). Enhanced micropropagation of *Dendrobium huoshanense* C.Z. Tanget S.J. Cheng through protocorm-like bodies: the effects of cytokinins, carbohydrate sources and cold pre-treatment. Scientia Horticulture. 123: 258-262.

Murashige, T. and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco cultures. Plant Physiology. 15:473.

Nayak, S., Hatwar, B. and Jain, A. (2010). Effect of cytokinin and auxins on meristem culture of *Bambusa arundinacea.* Der Pharmacia Letter. 2 (1): 408-414.

Nhut, D.T. (2003). The control of *in vitro* direct main stem formation of *Lilium longiflorum* derived from receptacle culture and rapid propagation by using *in vitro* stem nodes. Plant Growth Regulation. 40 (2): 179-184.

Van Staden, D. (2008). Plant growth regulators, II: cytokinins, their analogues and inhibitors. In: Plant Propagation by Tissue Culture (edn 3) (George, E.F. et al. eds). 205-226.

Archive of SID

www.SID.ir