



بهینه‌سازی تولید کالوس و باززایی در گیاه زیتنی 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 زیتنی به خصوص گیاهانی که تکثیر آنها به سختی صورت می‌گیرد، از طریق کشت بافت از ارزش و اهمیت زیادی برخوردار است. تکثیر گیاه زیتنی 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 (۲، ۴)، ۰ میلی‌گرم بر لیتر]، 2,4-D (۱، ۲، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)، [BA (۱، ۲، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و 2,4-D (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] و [BA (۲، ۴)، 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 (۲، ۴)، ۰ میلی‌گرم بر لیتر] و NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) قرار گرفتند. در مرحله کالوس‌زایی، NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) و [BA (۱، ۲، ۰ میلی‌گرم بر لیتر)] و [BA (۲، ۴)، ۰ میلی‌گرم بر لیتر] و NAA (۱، ۰/۵، ۰ میلی‌گرم بر لیتر) در مدت زمان تا شروع کالوس‌زایی و پس از گذشت ۵ هفته درصد کالوس‌زایی و وزن تر کالوس 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 درصد در 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 سانتی‌متر 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

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 زیتنی 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

زامیفولیا یک گیاه زیتنی 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 آفریقا است 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

۱ و ۲- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی،

دانشگاه آزاد اسلامی واحد لاهیجان، لاهیجان، ایران

(*) نویسنده مسئول: (Email: sadeghisafa777@yahoo.com)

DOI: 10.22067/jhorts4.v33i3.73637

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 القاء کالوس، حاوی ۰/۵ میلی‌گرم 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 تونین 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 مدت ۶۰ 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

می‌گیرد 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 قلمه‌های رویشی را در محیط مایع (آب مقطر) و یک محیط جامد جدید با مواد مغذی، مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان 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^۱ MS^۱ به همراه ترکیب هورمونی ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر BA^۲ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D^۳ 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 شاخه‌های ظریف گیاه استفاده کرد. مرحله اول به منظور القای کالوس، محیط کشت شامل اجزای MS با هورمون‌های ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA^۴ و در دمای ۲۶-۲۲ درجه سانتی‌گراد به میزان نور ۱۵۰۰-۱۲۰۰ LX مناسب تشخیص داده شد و بعد از ۱۵ روز کالوس تشکیل شد. در مرحله دوم محیط کشت مناسب برای جوانه‌زنی شامل اجزای MS به همراه ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم 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 MS ۱/۲ به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA بود. شی هپینگ و لیانگ (۱۵) در تحقیقی با بررسی سطوح مختلف تنظیم‌کننده‌ها، محیط کشت MS به همراه BA، 2,4-D و PVP^۵ 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 MS ۱/۲ به همراه NAA و BA به ترتیب ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر برای ریشه‌زایی گیاه زامیفولیا بهترین تیمار تشخیص دادند. پاپاتیو و همکاران (۱۱) با بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در ریز ازدیادی گیاه زامیفولیا که از سطوح

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

آماري 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 درصد کالوس‌زایی تأثیرگذار است. برهمکنش شدید فاکتورها در آزمایش نشان داد که بررسی تأثیر سطوح هورمون‌های اکسین و سائیتوکینین 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 سائیتوکینین در هر دو ریز نمونه ریزوم و دمبرگ سرعت کالوزایی 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 لیتر BA و ۲ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D در ریزنمونه دمبرگ با ۱۸/۵ روز کوتاه‌ترین در نتیجه بهترین تیمارها در سرعت کالوزایی می‌باشند (جدول ۱).

وزن تر کالوس

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 و ۲ میلی‌گرم بر لیتر 2,4-D با ۱/۳۵۰ گرم بیشترین وزن کالوس را نشان داد که می‌توان نتیجه گرفت دلیل برهمکنش شدید بین سطوح هورمونی اکسین و سائیتوکینین با ریزنمونه‌ها، سطوح متفاوت هورمونی در ریز نمونه‌های ریزوم و دمبرگ عکس‌العمل متفاوتی را برای وزن تر کالوس نشان داده‌اند (جدول ۱).

۱/۲ 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، پیروکسین گلايسين و مايو اينستول 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 1/2MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و 2,4-D (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌گرم بر لیتر) برای شاخه‌زایی و پس از مشاهده جوانه‌های شاخه و برگ به محیط کشت 1/2MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۵، ۱ میلی‌گرم بر لیتر) برای ریشه‌زایی انتقال یافتند.

آزمایش دوم: کالوس و باززایی ریزنمونه‌های برگ و شاخه

ریزنمونه‌های برگ و شاخه در محیط کشت MS 1/2 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 1/2MS 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 1/2MS حاوی هورمون‌های BA (۰، ۱، ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۵، ۱ 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

آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورها شامل ریزنمونه، تنظیم کننده‌های رشد اکسین و سائیتوکینین بود. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های

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 دلیل برهمکنش شدید بین سطوح هورمون‌ها و ریزنمونه‌ها، 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 کوتاه‌ترین زمان تا ریشه‌زایی بی‌فایده است. داده‌های ثبت شده نشان می‌دهد که عدم حضور سایتوکینین 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 سایتوکینین به طور جداگانه بر کالوس‌زایی نمی‌تواند مفید واقع گردد لذا انتخاب بهترین برهمکنش برای ریزنمونه‌ها 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 درصد 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 کالوزایی 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 سایتوکینین با ریزنمونه‌ها مشاهده گردید بطوری‌که سطوح متفاوت هورمونی در ریزنمونه‌های شاخه و برگ عکس‌العمل متفاوتی را برای وزن تر کالوس نشان دادند (جدول ۱). بیشترین وزن کالوس با غلظت هورمونی ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه‌های 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 سایتوکینین،

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 سایتوکینین 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).

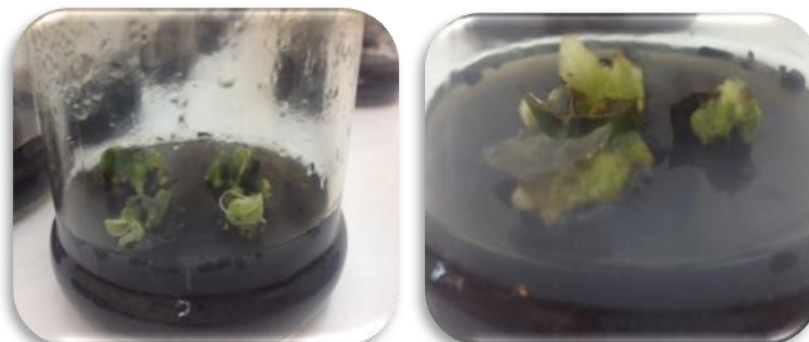
ریزنمونه برگ قابلیت بیشتری را در کوتاه کردن زمان شاخه‌زایی نسبت به ریزنمونه شاخه از خود نشان داد (جدول ۱). بررسی برهمکنش‌ها نشان داد که تیمار ۲ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه‌های برگ و شاخه به ترتیب با ۱۰/۵ و ۱۲/۵ روز کوتاه‌ترین زمان رسیدن به شاخه‌زایی را دارا می‌باشند (جدول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

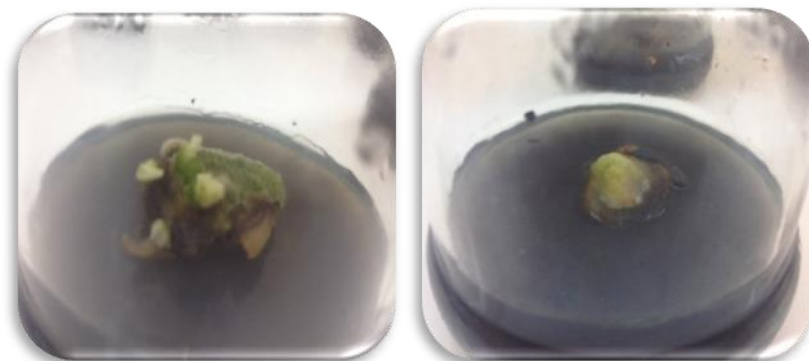
تعداد برگ

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



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*

جدول ۱- مقایسه میانگین تأثیر ترکیبات مختلف BA, NAA و 2,4-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 موردارزایی Measured traits						
	درصد کالوس زایی Calogenesis Percentage (%)	مدت زمان تا شروع کالوس زایی Time to start calogenesis (day)	وزن تر کالوس Fresh weight of callus (g)	مدت زمان تا شروع شاخه زایی Time to start shootming (day)	طول شاخه Shoot length (cm)	تعداد برگ Num ber of leave s	مدت زمان تا شروع ریشه زایی 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 ^e	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 ^e	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 ^e	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	--
2 mg/l BA+1 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	--
2 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + ریزوم (rhizome))	31.5 ^c	25.5 ^d	1.35 ^{bc}	17.0 ^{de}	2.10 ^c	1.5 ^e	--
2 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + دمبرگ (petiole))	4.5 ^f	28.0 ^d	0.25 ^{bd}	15.5 ^e	3.20 ^b	4.0 ^b	--
4 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + ریزوم (rhizome))	5.5 ^e	30.5 ^{cd}	0.65 ^e	16.5 ^e	3.15 ^b	2.5 ^d	--
4 mg/l BA+0 mg/l 2,4-D + دمبرگ (petiole))	55.0 ^a	18.0 ^f	1.85 ^a	12.0 ^g	4.10 ^a	5.5 ^a	--
4 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + ریزوم (rhizome))	44.5 ^b	21.5 ^e	1.06 ^c	13.5 ^f	3.85 ^b	4.0 ^b	--
4 mg/l BA+1 mg/l 2,4-D + دمبرگ (petiole))	10.0 ^{df}	27.0 ^d	0.53 ^e	17.0 ^{de}	2.05 ^c	2.5 ^d	--
4 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + ریزوم (rhizome))	22.0 ^d	18.5 ^f	0.75 ^d	15.5 ^e	2.10 ^c	1.0 ^e	--
4 mg/l BA+2 mg/l 2,4-D + دمبرگ (petiole))							
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	0.0 ^g
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))							
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))							
0 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	0.0 ^g
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	21.5 ^c
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	18.0 ^d
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	23.0 ^b
1 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	21.0 ^c
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	24.5 ^b
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	23.0 ^b
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	15.5 ^{ef}
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	14.0 ^f
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	24 ^b
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	22.5 ^{bc}
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	25.5 ^{ab}
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	26.0 ^a
2 mg/l BA+1 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	16.5 ^e
2 mg/l BA+1 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	17.0 ^e
2 mg/l BA+2 mg/l NAA + ریزوم (rhizome))	--	--	--	--	--	--	21.5 ^c
2 mg/l BA+2 mg/l NAA + دمبرگ (petiole))	--	--	--	--	--	--	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 ($p < 0.01$).



شکل ۳- باززایی شاخه از ریزوم گیاه زامیفولیا
Figure 3- Regenerated shoots from rhizomes of *Zamioculcas zamiifolia*



شکل ۴- کالوس ایجاد شده از برگ گیاه زامیفولیا
Figure 4- Produced callus from the leaves of *Zamioculcas zamiifolia*



شکل ۵- کالوس ایجاد شده از شاخه گیاه زامیفولیا
Figure 5- Produced callus from the shoot of *Zamioculcas zamiifolia*



شکل ۶- باززایی از برگ گیاه زامیفولیا
Figure 6- Regenerated shoots from leaves of *Zamioculcas zamiifolia*

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	درصد کالوس 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 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	0.0 ^f	0.0 ^f	0.0 ^g
0 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	0.0 ^h	0.0 ^f	0.0 ^f	0.0 ^h	0.0 ^f	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	1.50 ^{de}	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	1.35 ^e	2.0 ^e	--
0 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	0.0 ^h	0.0 ^f	0.0 ^f	24.5 ^c	1.75 ^d	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	25.5 ^c	1.65 ^d	3.5 ^e	24.0 ^b
0 mg/l BA+2 mg/l NAA + برگ(leaf)	--	--	--	--	--	--	24.5 ^{ab}
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	1.95 ^d	3.5 ^e	25.5 ^a
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	--	--	--	17.5 ^d	2.65 ^c	7.5 ^b	--
1 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	--	--	--	17.0 ^f	2.50 ^c	5.5 ^d	--
1 mg/l BA+1 mg/l NAA + برگ(leaf)	--	--	--	20.5 ^{de}	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	18.0 ^c	0.33 ^e	16.5 ^f	3.20 ^b	6.5 ^c	24.5 ^{ab}
2 mg/l BA+0 mg/l NAA + شاخه(shoot)	4.0 ^f	27.0 ^b	0.27 ^e	10.5 ^h	3.15 ^b	6.5 ^c	25.0 ^a
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + برگ(leaf)	53.5 ^d	19.0 ^c	0.82 ^d	12.5 ^g	4.10 ^a	8.0 ^a	--
2 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	73.5 ^b	26.0 ^b	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	19.0 ^e
2 mg/l BA+2 mg/l NAA + برگ(leaf)	--	--	--	--	--	--	22.0 ^c
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	21.5 ^{bc}	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	29.0 ^a	0.92 ^d	--	--	--	--
4 mg/l BA+0.5 mg/l NAA + شاخه(shoot)	46.5 ^e	29.5 ^a	1.02 ^c	--	--	--	--
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 ($p < 0.01$)

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 ریزنمونه برگ بالاترین درصد کالوس‌زایی را به همراه کوتاه‌ترین زمان تا رسیدن به کالوس دارا بود. ونیز کانتون و همکاران (۱۵) ریزنمونه‌های

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 سایتوکینین داشته و توازن بین آنها تولید کالوس را سبب می‌شود. رشد کالوس در یک گونه گیاهی براساس نوع ریزنمونه

و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر NAA، ۵ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۲ میلی گرم بر لیتر NAA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA تشخیص دادند در حالی که در تحقیق حاضر تیمار ۴ میلی گرم بر لیتر BA و ۱ میلی گرم بر لیتر 2,4-D برای ریزنمونه دمبرگ و تیمار ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه برگ برای شاخه‌زایی و تیمارهای ۱ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه دمبرگ و تیمار ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۱ میلی گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ برای ریشه‌زایی تشخیص داده شد. لین وی و همکاران (۷) در ریزنمونه برگ محیط کشت MS با تنظیم کننده‌های ۵ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۳ میلی گرم بر لیتر NAA را برای شاخه‌زایی و محیط کشت MS به همراه تنظیم کننده‌های ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۳ میلی گرم بر لیتر NAA را برای ریشه‌زایی مناسب تشخیص دادند.

نتیجه گیری

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 بهبود 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 میلی گرم بر لیتر BA و ۱ میلی گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ و در مرحله باززایی برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی، به ترتیب تیمارهای ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA در ریزنمونه برگ و ۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر NAA برای ریزنمونه دمبرگ مناسب تشخیص داده شد.

برگ و دمبرگ را روی محیط کشت MS 1/2 حاوی تنظیم کننده‌های رشد با ترکیب ۰/۲ میلی گرم بر لیتر BA و ۴ میلی گرم بر لیتر 2,4-D در تاریکی و در دمای ۲۷-۲۵ درجه سانتی‌گراد بهترین کشت اعلام کردند و ۴-۵ 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 نافرمانی 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 هورمون‌های 2,4-D، NAA، BA تعیین گردید که محیط کشت MS حاوی تنظیم کننده‌های رشد ۱ میلی گرم بر لیتر NAA و ۲ میلی گرم 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 1/2 بالاترین درصد کالوس‌زایی را داشته است. ژو چون لی و همکاران (۱۷) و لوپز و همکاران (۹) ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی گرم BA به همراه ۰/۵ میلی گرم NAA در ریزنمونه 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 NAA بعد از گذشت ۱۰ روز نسبت به اندام‌زایی و تولید شاخه و برگ واکنش نشان دادند. نتایج نشان داد که جهت شاخه‌زایی حضور اکسین و سائتوکنین و توازن بین آن‌ها تولید برگ و شاخه را سبب می‌شود. به طوری که از نتایج چنین برآمد که برهم خوردن این تعادل باعث کاهش کمی و کیفی برگ و شاخه می‌گردد. ژو چون هو و همکاران (۱۸) بهترین محیط کشت را برای کالوس‌زایی، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های دمبرگ و برگ، محیط کشت MS 1/2 حاوی تنظیم کننده‌های رشد با ترکیب هورمونی به ترتیب ۳ میلی گرم بر لیتر BA

منابع

- 1- Bejoy M., Sumitha V., and Anish N.P. 2008. Foliar regeneration in *Anthurium andraeanum* Hort.cv.Agnihotri. *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*

- 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



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

M. Sayadi Nejad¹- 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 Araceae 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)