پژوهشکده گل و گیاهان زینتی

OPRC

Ornamental Plants Research Center

2nd International and 3rd National Ornamental plants Congress

Iranian Society for Ornamental Plants

انجمن گل و گیاهان زینتی ایران

همه با هم

جهاد کشاورزی

معاونت امور باغبانی

مجری طرح گلخانه ها

بسمه تعالی

بدین وسیله گواهی می شود جناب آقای / سرکار خانم لیلا سمیعی

با همکاری سمانه قشقایی، زهرا کریمیان، علی تهرانی فر

مقاله ای با عنوان:

بهینه سازی تکثیر گیاه برگ زینتی بگونیا در شرایط درون شیشه ای

را در دومین کنگره بین المللی و سومین کنگره ملی گل و گیاهان زینتی ایران که از تاریخ ۱ الی ۳ آبان ماه ۱۳۹۷ در پژوهشکده گل و گیاهان زینتی برگزار شد، به صورت پوسترارائه کرده اند.

دکتر ولی اله بنی عامری

رئیس کنگره

دکتر پژمان آزادی

دبیر علمی کنگره

Iranian Society for Ornamental Plants

انجمن گل و گیاهان زینتی ایران

بهینه‌سازی تکثیر گیاه برگ زینتی بگونیا در شرایط درون شیشه‌ای

سمانه قشقایی[۱]، لیلا سمیعی[۲*]، زهرا کریمیان[۲]، علی تهرانی‌فر[۱]
۱- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران،
۲- گروه پژوهشی گیاهان زینتی، پژوهشکده علوم گیاهی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
Email: samiei@um.ac.ir

چکیده

گیاه برگ زینتی *Begonia soli- mutata* از خانواده *Begoniacea* می‌باشد. روش رایج تکثیر این گیاه از طریق قلمه برگ می‌باشد که به دلیل سرعت تکثیر پایین و احتمال انتقال آلودگی از کارایی لازم برخوردار نیست. بنابراین استفاده از روش‌های نوین تکثیر مانند کشت بافت برای این گیاه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد. در این پژوهش اثر ترکیبات هورمونی در مراحل مختلف کشت درون شیشه‌ای و باززایی این گیاه مورد بررسی قرارگرفت. در آزمایش اول روش‌های مختلف ضدعفونی سطحی ریزنمونه‌ها برای دستیابی به روش بهینه مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش دوم، بهترین اندازه ریزنمونه برگ برای باززایی مورد بررسی قرارگرفت. در آزمایش سوم، از ترکیبات هورمونی مختلف برای دستیابی به باززایی مستقیم و پرآوری درون شیشه‌ای بهینه استفاده شد. در این آزمایش از محیط کشت MS حاوی هورمون BAP (۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و هورمون تیدیازرون (TDZ) (۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با هورمون NAA (۰ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) استفاده شد. نتایج نشان داد که افزودن بنومیل و سفوتاکسیم به محیط کشت برای کنترل آلودگی های ریزنمونه ها در شرایط کشت بافت ضروری می باشد. همچنین بهترین اندازه ریزنمونه اولیه برگ سایز ۲ سانتی متر مربع بود که بالاترین میزان پرآوری را ایجاد نمود. علاوه بر این تیمار هورمونی BAP با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر، مناسب ترین تیمار برای باززایی ریزنمونه‌ها بود. TDZ علیرغم اینکه منجر به بالاترین درصد باززایی ریزنمونه‌ها شده بود، به دلیل اینکه گیاهچه‌های حاصل بسیار کوچک بوده و از رشد کندی برخوردار بودند تیمار مناسبی برای باززایی تشخیص داده نشد. در مجموع آزمایشات این تحقیق منجر به دستیابی به یک پروتکل بهینه برای باززایی مستقیم ریزنمونه‌ها به منظور تولید انبوه گیاه بگونیا گردید.

کلمات کلیدی: اندازه ریزنمونه، باززایی مستقیم، پرآوری، تکثیر انبوه

مقدمه

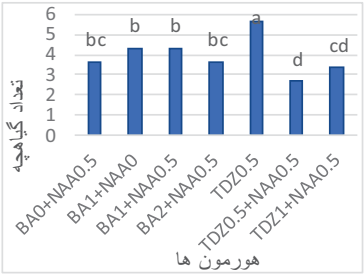
Begonia soli-mutata یکی از گونه‌های بگونیاهای زینتی متعلق به گونه *Begoniaceae* می‌باشد که در سال‌های اخیر معرفی شده و مورد توجه قرار گرفته است. برگ‌های گیاه به رنگ قهوه‌ای مایل به سرخ و قلبی شکل وکرکی و دارای رگبرگ هایی به رنگ سبز روشن می‌باشند. این نوع بگونیا از انواع مهم گیاهان برگ زینتی محسوب می‌شود و به عنوان یک گیاه پوششی و همچنین گیاه تجاری آپارتمانی و تراریومی در دنیا استفاده می‌شود (برنان وهمکاران،۲۰۱۲). به دلیل اینکه بیشتر انواع بگونیاها از طریق هیبریداسیون به وجود آمده‌اند، بنابراین تکثیر آن‌ها از طریق بذر برای دستیابی به گیاه شبیه به اصل ممکن نمی‌باشد. به این منظور از روش تکثیر رویشی این گیاهان استفاده می‌شود. قلمه برگ یکی از روش های رایج تکثیر این گیاه می‌باشد اما به دلیل سرعت تکثیر پایین و احتمال انتقال آلودگی از کارایی لازم برخوردار نیست بنابراین استفاده از روش‌های نوین تکثیر مانند کشت بافت برای این گیاه از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشد (تاکایاما،۱۹۸۲). تا کنون از تکنیک کشت بافت برای ریزازدیادی بسیاری از گونه‌های بگونیا استفاده شده است (اسپینو و همکاران، ۲۰۰۴، مندی و همکاران، ۲۰۰۹). به عنوان مثال ریزازدیادی *Begonia x cheimantha* با استفاده از دمبرگ گیاه و همچنین محیط کشت MS حاوی غلظت‌های پایین NAA به همراه BA موفقیت آمیز بوده است (فونسبچ، ۱۹۷۴). همچنین استفاده از برگ و دمبرگ گونه *Begonia hiemalis* در ریزازدیادی این گیاه در حضور هورمون NAA به تنهایی موفقیت آمیز بوده است (ولاندر، ۱۹۷۷). هدف از این پژوهش دستیابی به پروتکل بهینه برای ریزازدیادی گیاه *Begonia soli-mutata* از طریق ارزیابی فاکتورهای مختلف موثر در باززایی این گیاه می‌باشد.

مواد و روش‌ها

گیاهان بگونیا از گلخانه‌ای در پنج کیلومتری اطراف مشهد تهیه شد و به آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده علوم گیاهی انتقال یافت. در آزمایش اول از پنج روش برای ضدعفونی ریزنمونه های برگ بگونیا استفاده شد. مواد مورد استفاده، علاوه بر الکل و هیپوکلریت سدیم، شامل بنومیل، سفوتاکسیم، نانوسیلور و نیترات نقره بودند. در آزمایش دوم از سایزهای مختلف ریزنمونه برگ (۱، ۲ و ۳ سانتی متر مربع) برای دستیابی به بالاترین میزان پرآوری استفاده شد. در آزمایش سوم از غلظت‌های مختلف تنظیم کننده رشد BAP (۰، ۱ و ۲) و TDZ (۰/۵ و ۱ میلی گرم بر لیتر) همراه با NAA (۰ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر) برای دستیابی به باززایی بهینه این گیاه استفاده شد. پس از دو بار واکشت گیاهچه ها با فواصل ۴ هفته‌ای، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده از محیط درون شیشه‌ای خارج شده و در لیوان‌های پلاستیکی حاوی محیط کشت کوکوپیت: پرلیت (۱:۱) برای سازگاری انتقال یافتند.

نتایج و بحث

در آزمایشات مقدماتی این تحقیق، مشخص شد که ریزنمونه‌ها دارای آلودگی های باکتریایی و قارچی فراوانی هستند. آزمایشات مربوط به روش‌های مختلف ضدعفونی نشان داد که استفاده از بنومیل و سفوتاکسیم در محیط کشت ریزنمونه‌ها می‌تواند به میزان بالایی (۹۷ درصد) آلودگی‌های باکتریایی و قارچی را کنترل نماید. در آزمایش دوم بالاترین درصد زنده مانی ریزنمونه‌ها (۹۰ درصد) در اندازه برگ ۲ cm^2 مشاهده شد که به طور معنی‌داری با اندازه های برگ ۱cm^2 و ۳cm^2 متفاوت بود. بسیاری از محققان در تحقیقات خود اندازه ۱ و ۲ سانتی متر مربع از سطح ریز نمونه را برای ریز ازدیادی گیاهان، مناسب دانستند (باسی، ۱۹۹۴ سوکومپینی وهمکاران، ۲۰۱۰). در آزمایش سوم بیشترین میانگین تعداد گیاهچه‌های باززایی شده (۵/۶۶) با استفاده از تیمار ۰/۵ mg/l TDZ وکمترین میانگین تعداد گیاهچه (۲/۶۶) در تیمار ۱mg/l BA + ۰/۵ mg/l NAA بدست آمد. بیشترین تعداد برگ (۶۲/۲۲) در تیمار ۱ mg/l TDZ + /۵ mg/l NAA وکمترین تعداد برگ (۶/۶۶) در تیمار ۰/۵ mg/l NAA مشاهده شد. بیشترین عرض برگ (۲/۳۵) در تیمار ۱ mg/l BA و پس از آن در تیمار ۲ mg/l BA +۰/۵ mg/l NAA مشاهده شد. بر اساس مشاهدات چندین ماهه رشد گیاهچه‌ها می‌توان به این نتیجه دست یافت که اگرچه هورمون تیدیازرون با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم درلیتر، تعداد گیاهچه زیادی تولید کرد اما گیاهچه‌ها سرعت رشدی بسیار پایینی را نسبت به سایر تیمارهای حاوی هورمون BAP نشان دادند (شکل ۱) و گیاهچه‌ها به دلیل دارا بودن ریشه‌های خیلی ضعیف، قابل انتقال به خاک نبودند. در نتیجه از لحاظ تجاری تیمار مطلوبی به شمار نمی‌رود. تیمار هورمونی (۱ میلی‌گرم در لیترBA) بهترین پیشنهاد برای باززایی مستقیم می‌باشد (شکل ۲). مندی و همکاران (۲۰۰۹) به این نتیجه دست یافتند که محیط MS حاوی BA به غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و NAA ۱ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه باززایی را به همراه داشته است. در این آزمایش نشان داده شد که هورمون NAA برروی سیتوکینین اثر آنتاگونیستی داشته است. این مورد در پژوهش مشابه توسط نات و همکاران (۲۰۰۶) نیز گزارش شد که افزایش غلظت اکسین در شرایطی که سیتوکینین ثابت است باعث کاهش بازده باززایی می‌شود. ولاندر و همکاران (۱۹۷۷) نیز به این نتیجه دست یافتند که اگر نسبت هورمون NAA به هورمون BA کم شود، شاخه‌دهی افزایش می‌یابد و ساقه و ریشه همزمان رشد می‌کنند که با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارند. در مجموع نتایج این تحقیق منجر به دستیابی به یک پروتکل بهینه و با بازدهی بالا برای ریزازدیادی گیاه بگونیا گردید.



شکل ۱- اثر تیمارهای هومونی مختلف بر تعداد گیاهچه باززایی شده در شرایط درون شیشه‌ای

شکل ۲- گیاه پرآوری شده پس از ۴ ماه نگهداری در اتاق رشد

منابع

1. Brennan, A.C., Bridgett, S., Ali, M.S., Harrison, N., Matthews, A., Pellicer, J. and Kidner, C.A. (2012). Genomic resources for evolutionary studies in the large, diverse, tropical genus, *Begonia*. Tropical Plant Biology, 5(4): 261-276.
2. Takayama, S. and Misawa, M. (1982). Factors affecting differentiation and growth in vitro, and a mass-propagation scheme for *Begonia* x *hiemalis*. Scientia Horticulturae, 16(1): 65-75.
3. Mendi, Y.Y., Curuk, P., Kocaman, E., Unek, C., Eldogan, S., Gencel, G. and Cetiner, S. (2009). Regeneration of begonia plantlets by direct organogenesis. African Journal of Biotechnology, 8(9):1860-1863.
4. Fonnesbech, M. (1974). Temperature effects on shoot and root development from *Begonia× cheimantha* petiole segments grown in vitro. Physiologia Plantarum, 32(3): 282-286.
5. Welanderw, T. (1977). In vitro organogenesis in explants from different cultivars of *Begonia* x *hiemalis*. Physiologia Plantarum, 41(2): 142-145.
6. Bassi, G. and Cossio, F. (1994). Simplified protocol for in vitro shoot regeneration from leaves of *Prunus domestica* L. (*cv 'Susina di Dro'*). Springer, Dordrecht.
7. Sukhumpinij, P., Kakihara, F. and Kato, M. (2010). In vitro regeneration from mature leaf explants of *Pelargonium rapaceum* (L.) L'Hérit. Scientia Horticulturae, 126(3): 385-389.
8. Nhut, D. T., Hai, N. T. and Phan, M. X. (2010). A highly efficient protocol for micropropagation of *Begonia tuberosa*. Protocols for in Vitro Propagation of Ornamental Plants. Humana Press.

Optimization of *in vitro* propagation of *Begonia soli-mutata*

Samaneh Ghashghaei[1], Leila Samiei[2*], Zahra Karimian[2], Ali Tehranifar[1]
[1]Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
[2]Department of Ornamental Plants, Research Center for Plant Sciences, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
Email: samiei@um.ac.ir

Abstract
Begonia soli-mutata is one of the ornamental foliage plants which belongs to Begoniaceae family. Traditional propagation method of this plant is through leaf cutting which is a slow and low efficient method with high risk of contamination transmission. The use of the modern propagation techniques such as micropropagation which produce healthy and more uniform plantlet is crucial for this plant. Therefore, in this study, the effect of various factors for obtaining an efficient micropropagation protocol was investigated. In the first experiment, various surface sterilization procedure for explants disinfection were evaluated. In the second experiment, the best explant size for achieving the highest plant regeneration was investigated. In the third experiment, various plant growth regulators were tested to obtain the highest direct plant regeneration *in vitro* conditions. In this experiment, MS medium containing BAP (0, 1 and 2 mg /l) and thiodiazuron (TDZ) (0.5 and 1 mg / L) in combination with NAA (0 and 0.5 mg/l) was used. The results indicated that addition of cefotaxime and benomyl is crucial for the complete control of contaminations beside the use of the common disinfection method using sodium hypochlorite and alcohol. Also, 2 cm^2 leaf explant size generated the highest number of plantlets *in vitro* condition. Additionally, 1 mg/l BAP was the most suitable treatment for regeneration of explants which produced the highest number of plantlet through direct regeneration. Although, generated the highest number of plantlet, TDZ was not the best treatment due to the production of very small and slow growing plantlet. Overall, this study led to the development of a fast and efficient protocol for mass propagation of Begonia soli-mutata.
Keywords: Direct regeneration, Explant size, Mass propagation, Proliferation