

بهبود تولید پاگیاه در سانسوریای پاکوتاه به کمک اختلال در چیرگی انتهایی

متین کاظم زاده بهنمیری، مصطفی خوشحال سرمست*، زهرا رضایی قلعه

گروه علوم باغبانی و فضای سبز، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گلستان

✉ mkhsarmast@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۳/۲۱، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۵/۳۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۲۹

چکیده

افزایش هم‌گروهی گیاهان زینتی به‌ویژه در گونه‌های بافت‌ناهمسان بسیار بااهمیت است. با توجه به اینکه تنها راه افزایش هم‌گروهی گیاه سانسوریای ابلق استفاده از تولید پاگیاه با منشأ نیساگ است، بنابراین بهبود باززایی آن‌ها با استفاده از این روش بسیار بااهمیت است. بدین منظور در این بررسی با استفاده از تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین (سایتوکینین) و استفاده از تیمارهای مکانیکی زخم زنی، رشد مریستم انتهایی برای بهبود تولید پاگیاه دچار اختلال شد. این آزمایش در شرایط کنترل‌شده گلخانه و درون گلدان‌های پلاستیکی روی سانسوریای پاکوتاه انجام شد. ارزیابی‌ها بیانگر این است که استفاده از تیمار ترکیبی حذف انتهایی برای کنترل چیرگی انتهایی به همراه محلول‌پاشی برگی ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین به‌صورت معنی‌داری بر تعداد جوانه پاگیاه‌های تولیدشده می‌افزاید. این تیمار همچنین در بهبود ارتفاع، قطر و وزن پاگیاه‌های تولیدشده به‌مراتب اثر بهتری نسبت به دیگر تیمارها و شاهد داشت. به نظر می‌رسد که غلظت‌های بالای سایتوکینین اثر منفی در باززایی داشته و استفاده از غلظت‌های کمتر به‌تنهایی در از بین بردن چیرگی انتهایی اثر جزئی دارد. حذف چیرگی انتهایی به همراه محلول‌پاشی برگی ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین می‌تواند دستکم به میزان یک و نیم برابر میزان باززایی و تا دو برابر تعداد ریشه و وزن گیاهک‌های باززایی شده از نیساگ را افزایش دهد.

واژه‌های کلیدی: افزایش هم‌گروهی، بنزیل آدنین، نیساگ، مریستم انتهایی.

مقدمه

سانسوریا^۱ گیاهی گوشتی و بومی مناطق مختلفی مانند جزایر گرمسیری قناری، مناطق نیمه‌گرمسیری ژاپن، هند، نیجریه، تایلند و برزیل است. این گیاه به زبان مادرشهر، گیاه مار، گیاه خوش‌شانس و گیاه شیطان نیز معروف است (Takawira & Nordal, 2001; Hartmann et al., 2002). سانسوریا اگرچه که در باغبانی دارای ارزش زینتی است اما برای ویژگی‌های دیگری مانند تولید محصولات فیبری، ترکیبات زیستی (Sreenivasan et al., 2011) و به‌عنوان منبع ارزشمندی برای مواد شیمیایی گیاهی نیز به کار گرفته می‌شود (Mimaki et al., 1996; Tchegnitegni et al., 2017; Teponno et al., 2016). به گفته NASA، *Sansevieria trifasciata* یکی از گیاهانی است که برای بهبود کیفیت هوای فضاهای سرپوشیده مورد مطالعه قرار گرفته است. یافته‌ها نشان داد که *Sansevieria trifasciata* در جذب سمومی مانند بنزن، زایلن و فرمالدئید بسیار مؤثر است (Wolverton).

(et al., 1989). یکی از ارقام این گونه گیاهی *Sansevieria trifasciata 'Hahnii'* یا سانسوریا آشیانه پرنده^۱ است که دارای برگ‌های کوتاه جذاب، سبز تیره و دارای بازتاب نور است که حالت بیساگ^۲ بوده و در واقع در اثر یک جهش جوانه از *S. trifasciata 'Laurentii'* به وجود آمد. رقم بسیار زیبای *Sansevieria trifasciata 'Golden Hahnii'* یا سانسوریای آشیانه پرنده طلایی^۳ در اثر جهش از رقم سبز رنگ خود به وجود آمده است. نظر به اینکه که افزایش ارقام بافت ناهمسان به کمک قلمه برگ منجر به تولید گیاهان با برگ سبز می‌شود بنابراین در حال حاضر با اطمینان‌ترین روش افزایش ارقام ابلق، استفاده از پاگیاه است. سانسوریا را در برخی گونه‌ها می‌توان با بذرها، قلمه‌های برگ و نیساگ‌ها تکثیر نمود (Arnold, 2004). برخی از گونه‌های سانسوریا با بذر قابل تکثیر است اما به دلیل سرعت رشد کم و به دلیل غیرقابل دسترس بودن بذر، افزایش بذری روش مناسبی نیست. نتایج بررسی‌های پیشین ما نشان می‌دهد که استفاده از فنون کشت درون‌شیشه‌ای نیز قادر به تولید گیاهان بافت ناهمسان پایدار نیست (نتایج منتشر نشده است). برای تولید تجاری و افزایش عملکرد برگ که قسمت زینتی این گیاه را تشکیل می‌دهد استفاده از روشی که در مدت‌زمان کم منجر به القای گیاهچه شود ضروری است. استفاده از پاگیاه، شاید منطقی‌ترین روش افزایش رویشی این گیاه است. پاگیاه‌ها از انتهای نیساگ کوتاه تولید می‌شوند و می‌توانند به‌عنوان روش مؤثر تکثیر رویشی در تولید گیاهان چند ساله استفاده شوند (Carey, 2008). بنابراین استفاده از روش‌هایی که بتواند راندمان تولید پاگیاه در سانسوریا را افزایش دهد از نظر تجاری بسیار باارزش است. نظر به اینکه حذف چیرگی انتهایی و سرکوب نمودن اثر اکسین در اثر حذف چیرگی انتهایی منجر به تولید سایتوکینین و تحریک تولید جوانه جانبی می‌شود بنابراین استفاده از روش‌هایی که در کاهش چیرگی انتهایی مؤثر باشند به‌احتمال در بالا بردن راندمان تولید پاگیاه نیز مؤثر خواهند بود. سایتوکینین‌ها بر میزان رشد پاگیاه‌ها تأثیر مثبتی دارند. این فرضیه پیش‌تر با افزایش میزان رشد پاگیاه در گیاه هاورتیا تحت تأثیر بنزیل آدنین ثابت شده است (Lizumi & Amaki, 2011) همچنین محلول‌پاشی سایتوکینین روی گیاه *Hemerocallis citrine* منجر به افزایش میزان پاگیاه شد. سایتوکینین‌ها اندازه و میزان پاگیاه را به‌وسیله تحریک تقسیم یاخته‌ای و رشد جوانه‌های جانبی افزایش می‌دهند (Amling et al., 2007).

سایتوکینین‌ها گروهی از تنظیم‌کننده‌های رشد با اهمیت در کشاورزی بوده و در بسیاری از فرآیندهای رشد و نمو گیاه شامل تقسیم یاخته‌ای و تمایز یابی نقش داشته و همچنین موجب افزایش توسعه سطح برگ، افزایش تعداد شاخه جانبی و تحرک عناصر غذایی می‌شوند (Shudo, 1994). غلظت بالای سایتوکینین‌ها از رشد ریشه جلوگیری می‌کند، اما غلظت پائین آن باعث بهبود رشد ریشه می‌شود (Zhang & Hasenstein, 1999). همچنین این ترکیب‌ها تولید گل را در بسیاری از گیاهان افزایش می‌دهند (Carey et al., 2008). سایتوکینین‌ها به‌طور گسترده‌ای در تولید گیاهان زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. چندین مطالعه نشان داده است که تنظیم‌کننده‌های رشد گیاه مانند سایتوکینین‌ها می‌توانند رشد اندام هوایی (شاخساره‌ها) را بهبود بخشند (Carey, 2008). بنابراین در این پژوهش به‌منظور بهبود افزایش هم‌گروهی^۴ گیاه سانسوریا روش‌های هورمونی و غیرهورمونی برای حذف یا کاهش چیرگی انتهایی در راستای القای تولید پاگیاه در گلدان و در شرایط گلخانه کنترل‌شده انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و استقرار گیاه

در این پژوهش سانسوریای سبز پاکوتاه ۱۲ ماهه از گلخانه تجاری تهیه و برای آزمایش استفاده شد. در اسفند ۱۳۹۹ کشت گیاهان در گلدان شماره ۱۲ نشایی در آمیخته خاکی (۳۵ درصد کمپوست چوب، ۳۵ درصد ماسه بادی، ۱۳ درصد پرلیت، ۸.۵

۱- Clonal propagation -۴

۲- Golden bird nest sansevieria -۳

Rosette -۲

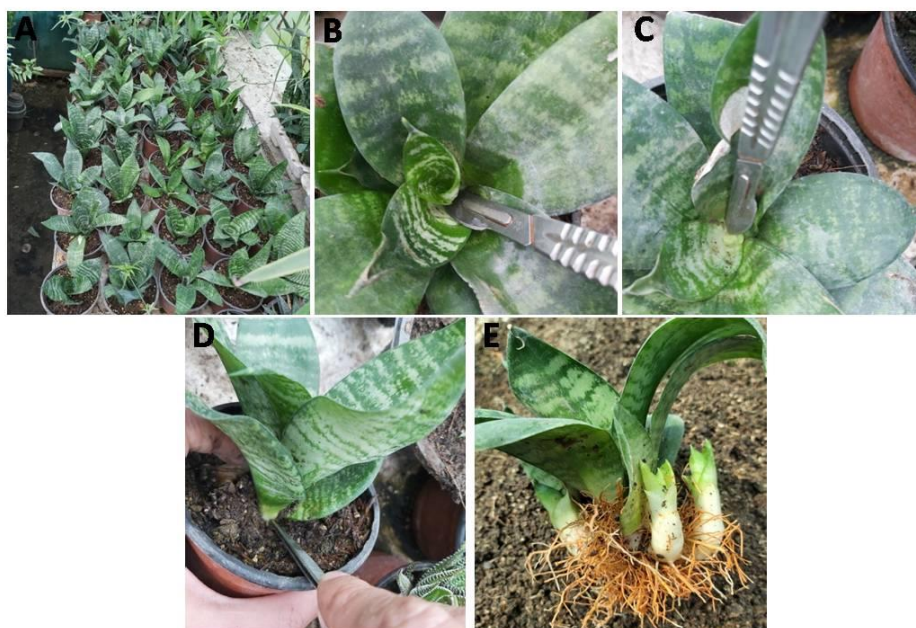
Bird nest sansevieria -۱



درصد پوسته برنج و ۸/۵ درصد کود پوسیده دامی) صورت گرفت. قبل از جابجایی گیاه از عدم وجود هر گونه جوانه روی طوقه گیاه اصلی اطمینان حاصل شد. تمامی گیاهان استفاده شده یک اندازه و به طور کامل یکنواخت بودند. گیاهان به مدت یک ماه در شرایط گلخانه مستقر شدند.

تیمارها

بی درنگ پس از استقرار گیاه، به منظور از بین بردن چیرگی انتهایی، ۷ تیمار روی این گیاهان انجام شد. تیمارها شامل ایجاد زخم افقی عمیق در دو جهت به کمک پنس آزمایشگاهی در ناحیه وسط طوقه گیاه (شکل ۱)، حذف کامل جوانه انتهایی به کمک تیغ آزمایشگاهی، حذف جوانه انتهایی به وسیله آلوده کردن آن به قارچ، تیمار ۵۰ میکرو مولار بنزیل آدنین، تیمار ۵۰۰ میکرو مولار بنزیل آدنین، ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین به علاوه حذف جوانه انتهایی و شاهد بود. در خصوص تیمار قارچی، نمونه هایی که جوانه انتهایی آن ها به طور طبیعی توسط قارچ *Alternaria* و *Fusarium moniliforme* از بین رفته بود به عنوان یک تیمار مستقل استفاده شد. شناسایی و تأیید بیماری زایی قارچ توسط آزمایشگاه گیاه پزشکی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. محلول پاشی با بنزیل آدنین ۴ مرتبه و با فواصل یک هفته ای انجام شد.



شکل ۱- A: گیاهان مورد استفاده در این آزمایش. B, C: حذف شاخساره های انتهایی به کمک اسکالپل D: زخم زنی افقی طوقه سانسوریا E: پاجیه های باززایی شده با منشأ نیساگ.

Figure 1- A: Representative of plants that have been used in this experiment. B, C: Removing of apical shoots by scalpel D: Horizontal wounding of Sansevieria crown via forceps. E: regenerated of rhizome-derived offsets.

صفات گیاه مادری شامل تعداد برگ سبز رنگ، محتوی کلروفیل برگ با کلروفیل سنج صحرایی و قطر ساقه با کولیس دیجیتالی اندازه گیری شد. برای اندازه گیری صفات پاجیه ها، ابتدا پاجیه ها از گیاه مادری جدا و تعداد آن ها شمارش شد و بعد خصوصیات از قبیل ارتفاع برگ از محل اتصال به طوقه (قاعده برگ) تا نوک برگ با خط کش، وزن تر به وسیله ترازوی دیجیتالی، قطر ساقه

با کولیس دیجیتالی، تعداد برگ سبز رنگ، کلروفیل به وسیله کلروفیل سنج صحرایی و تعداد ریشه های اصلی دارای ریشه ثانویه اندازه گیری و ثبت شدند.

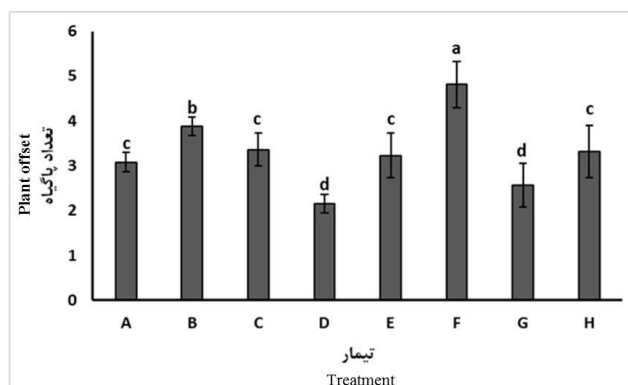
واکاوی آماری داده ها

این آزمایش با ۶ تکرار در قالب طرح به طور کامل تصادفی در گلخانه واقع در دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. جمع آوری داده ها ۷۰ روز پس از شروع تیمار انجام شد و با استفاده از آخرین نسخه نرم افزار SPSS واکاوی و مقایسه میانگین ها در سطح احتمال ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD انجام شد.

نتایج و بحث

اثر هم افزایی بنزیل آدنین و حذف چیرگی انتهایی در بهبود باززایی سانسوریا

بررسی های انجام شده در شرایط گلخانه بیانگر این است که استفاده از غلظت بالای بنزیل آدنین برای غلبه بر چیرگی انتهایی بی اثر است و استفاده از ۵۰۰ میکرومولار بنزیل آدنین حتی منجر به تولید تعداد کمتری پاگیاه در مقایسه با گیاه شاهد شده است. این در حالی است که غلظت های ۱۰ برابر کمتر این هورمون قادر نبود به طور معنی داری بر تعداد پاگیاه بیفزاید. ارزیابی ها بیانگر این است که استفاده از تیمار ترکیبی حذف جوانه انتهایی برای کنترل چیرگی انتهایی به همراه محلول پاشی برگ ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین به صورت معنی داری بر تعداد پاگیاه های تولید شده می افزاید (شکل ۲). در حالی که استفاده مجزا از این تیمارها در بهبود تولید پاگیاه معنی دار نبود. به نظر می رسد که استفاده مجزا از این هورمون ها قادر به کنترل کامل چیرگی انتهایی نیست. استفاده از تیمار قارچ برای از بین بردن مرستم انتهایی، حذف مرستم انتهایی به کمک اسکالپل و تیمار ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین اثر مشابهی بر میزان پاگیاه های تولید شده داشتند که این افزایش نسبت به شاهد معنی دار نبود. به نظر می رسد که اثر این سه تیمار در القا، نسبی بوده است. اثر مثبت تنظیم کننده رشد سایتوکینین در کاهش چیرگی انتهایی و تولید پاگیاه (Khalighi et al., 2005, Garner et al., 1998)، همچنین بسیاری از فرایندهای رشدی و نمو گیاهان (Taiz et al., 2015) و حتی بهبود مقابله با تنش غیرزیستی (RezaeiGhaleh et al., 2021) پیش تر گزارش شده است. اما در تمامی این موارد غلظت و زمان استفاده از این تنظیم کننده ها و گیاه هدف در نتایج حاصله نقش تعیین کننده ای داشته است. نظر به اینکه بنزیل آدنین یکی از کلیدی ترین تنظیم کننده های رشد در باززایی گیاهان درون شیشه ای است در بررسی های بی شماری اثرات منفی آن در شرایط درون شیشه ای در غلظت های بالا به فراوانی گزارش شده است (Burrows et al., 1988). صالحی و همکاران (۲۰۱۳) در شرایط گلخانه ای گیاه آلوئه ورا را تحت دو تیمار بنزیل آدنین و جیبرلین قراردادند و بیشترین تعداد پاگیاه را در غلظت ۴۰۰ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین مشاهده کردند.

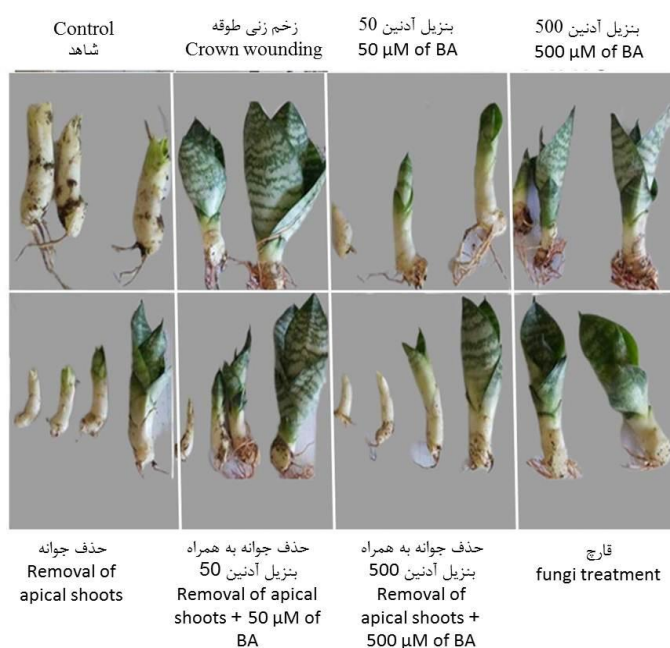


شکل ۲- میزان تولید پاجیه در سانسوریا پاکوتاه در پاسخ به تیمارهای مختلف پس از ۴ ماه از شروع آزمایش. (A: شاهد، B: زخم طوقه، C: بنزیل آدنین ۵۰ میکرومولار، D: بنزیل آدنین ۵۰۰ میکرومولار، E: حذف جوانه انتهایی، F: حذف جوانه انتهایی به همراه بنزیل آدنین ۵۰ میکرومولار، G: حذف جوانه انتهایی به همراه بنزیل آدنین ۵۰۰ میکرومولار، H: تیمار قارچ). میانگین‌های دارای حروف مشترک تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون LSD ندارند. خطای استاندارد روی هر ستون آمده است.

Figure 2- Offset frequency in *Sansevieria* in response to different treatments, 4 months after beginning of the experiment. A: control plant, B: crown wounding, C: 50 μ M of BA, D: 500 μ M of BA, E: Removal of apical shoots, F: Removal of apical shoots + 50 μ M of BA, G: Removal of apical shoots + 500 μ M of BA, H: fungi treatment. Means with the same letters are not significantly different at $P < 0.05$ based on LSD test. Standard error is shown in each bar.

بهبود ویژگی‌های ظاهری و رشدی گیاهان باززایی شده در تیمار با بنزیل آدنین

نتایج بیانگر این است که به تقریب تمامی تیمارهای به کار رفته در مقایسه با شاهد، منجر به افزایش طول ساقه‌های پاجیه‌های باززایی شده شد. همچنین تیمارهای بنزیل آدنین و حذف چیرگی انتهایی نیز قطر پاجیه‌ها را نسبت به شاهد بهبود بخشید (جدول ۱ و شکل ۳).



شکل ۳- اثر تیمارهای مختلف آزمایشی روی ریخت شناسی سانسوریاهای باززایی شده.

Figure 3- Effects of different experimental treatments on regenerated *Sansevieria* offsets.

جدول ۱- طول ساقه، قطر ساقه، وزن ساقه، میانگین تعداد ریشه گیاه باززایی شده و قطر گیاه مادری تحت تیمارهای مختلف پس از ۷۰ روز.

Table 1- Stem height, Stem diameter, stem weight, mean of the number roots on regenerated offsets and mother plant diameter subjected to different treatments after 70 days.

پارامترها	تیمار							
	گیاه شاهد	زخم زنی طوقه	بنزیل آدنین ۵۰	بنزیل آدنین ۵۰۰	حذف جوانه انتهایی	حذف جوانه به همراه بنزیل آدنین ۵۰	حذف جوانه به همراه بنزیل آدنین ۵۰۰	تیمار fungi treatment
	control plant	crown wounding	50 μ M of BA	500 μ M of BA	Removal of apical shoots	Removal of apical 50 +shoots μ M of BA	Removal of apical +shoots 500 μ M of BA	
طول ساقه (cm)	4.09 ^b	7.72 ^a	4.92 ^b	7.16 ^a	8.50 ^a	7.17 ^a	8.01 ^a	7.99 ^a
قطر ساقه (cm)	10.24 ^b	10.76 ^b	13.28 ^a	13.83 ^a	13.48 ^a	13.17 ^a	12.77 ^a	10.97 ^b
وزن ساقه (گرم)	19.21 ^b	36.61 ^{ab}	25.39 ^{ab}	27.42 ^{ab}	40.79 ^a	39.88 ^a	39.13 ^a	29.59 ^{ab}
تعداد ریشه	2.17 ^d	2.55 ^{cd}	3.28 ^{bc}	3.68 ^b	2.25 ^d	5.27 ^a	4.55 ^a	3.51 ^b
قطر گیاه مادری (cm)	19.76 ^{ab}	19.32 ^{ab}	20.48 ^{ab}	22.23 ^a	22.01 ^a	21.14 ^a	17.33 ^{bc}	14.33 ^c

میانگین‌هایی که حروف مشترک دارند از نظر آماری در سطح ۵ درصد آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different with LSD test (with 5% probability).

غلظت پایین سایتوکینین‌ها به همراه حذف جوانه انتهایی به میزان دو برابر، ریشه‌های تولیدشده را در پاجایه بهبود بخشید. این در حالی است که حذف جوانه انتهایی به تنهایی تأثیر معنی‌داری در بهبود تولید ریشه نداشت، همچنین اعمال تیمار بنزیل آدنین ۵۰ میکرومولار در گیاهانی که جوانه انتهایی آن‌ها حذف شده بود نیز تأثیر مثبتی بر تعداد ریشه نداشت. با حذف جوانه انتهایی اثر بازدارندگی اکسین بر جوانه‌های پایین برطرف می‌شود (Müller & Leyser, 2011). از سوی دیگر، کاربرد خارجی سایتوکینین قادر به مهار چیرگی اکسین بر فعالیت جوانه‌های جانبی است (Chatfield *et al.*, 2000) این موضوع می‌تواند تعادل اکسین را در پاجایه‌های تولیدشده برای بهبود ریشه‌زایی بهبود ببخشد. اکسین در غلظت‌های بالا سبب تحریک ریشه‌زایی و تشکیل ریشه‌های فرعی و نابجا می‌شود، ولی از طویل شدن ریشه‌های اولیه جلوگیری می‌کند. حذف جوانه انتهایی به دلیل حذف منبع اکسین سبب کاهش تشکیل ریشه‌های ثانویه می‌شود. همان‌طور که مشاهده می‌شود در ابتدا با حذف جوانه انتهایی و کاهش یافتن مقادیر اکسین، تشکیل ریشه‌ها افزایش یافت و کاربرد بنزیل آدنین خارجی با غلظت پایین (۵۰ میکرومولار) تشکیل ریشه را بهبود بخشید اما در غلظت بالاتر سایتوکینین، تعداد ریشه کاهشی شد. علت این موضوع می‌تواند مربوط به اثر سایتوکینین خارجی ۵۰۰ میلی‌مولار باشد (Salehi Sardoei *et al.*, 2013). بر اساس یک گزارش، افزایش غلظت بنزیل آدنین در محیط کشت آزمایشگاهی منجر به افزایش تعداد ریشه در گیاهان *Allium cepa* و *Nigella sativa* می‌شود، با این حال، غلظت‌های بالای بنزیل آدنین باعث مهار رشد ریشه می‌شود (EI-Ghamery & Mousa, 2017). نتایج تکثیر گیاه آلوئه‌ورا در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از غلظت‌های مختلف سایتوکینین و اکسین نشان داد که برای القای ریشه، محیط MS فاقد هورمون نیز باعث ریشه‌زایی می‌شود. ایندول بوتریک اسید بهترین نتیجه را برای القای ریشه نسبت به IAA نشان داد (Kiran *et al.*, 2017). در پژوهشی، Sharma و Khanam (۲۰۱۴)، حداکثر القای ریشه را در گیاه آلوئه‌ورا در شرایط آزمایشگاه و در محیط MS همراه با ۰/۲ میلی گرم

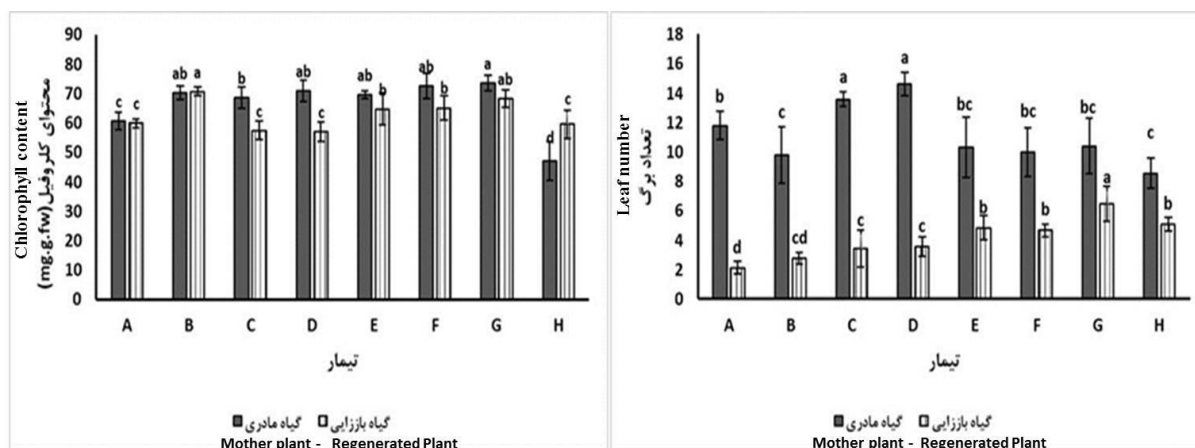
در لیتر IBA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده کردند. با حذف جوانه انتهایی و همچنین محلول پاشی بنزیل آدنین با غلظت ۵۰ و ۵۰۰ میکرومولار میزان رشد هر ۳ پارامتر (طول، وزن و قطر ساقه) نسبت به محلول پاشی بنزیل آدنین بدون حذف جوانه انتهایی و شاهد بیشتر بود. تیمار ترکیبی ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین به همراه حذف جوانه انتهایی در تمامی عامل های رشد و نمو در گیاهان باززایی شده برتری نشان داد. وجود تنظیم کننده های رشد گیاهی، به ویژه سایتوکینین در محیط کشت، مهم ترین عامل برای تکثیر اندام هوایی است (Aggarwal & Barna, 2001; Chaudhuri & Mukundan, 2001; Abrie & van Staden, 2001; Liao et al., 2004). انشعابات جانبی (شاخه دهی) در گیاهان با برهمکنش بین هورمون های ایندول-۳-استیک اسید (IAA، اکسین)، سایتوکینین و استریگولاکتون (strigolactone) تنظیم می شود (Ferguson & Beveridge, 2009). در مطالعات پیشین گزارش شده است، گیاهانی که ژن *ipt* به آن ها منتقل شد میزان سایتوکینین درونی آن ها افزایش پیدا کرد و با افزایش میزان سایتوکینین رشد اندام هوایی و شاخه دهی نیز افزایش یافت (Medford et al., 1989; Li et al., 1992; Memelink et al., 1988; Smigocki & Owens 1987). سورافل و همکاران (۲۰۱۸) گیاه آلوهورا^۱ را در محیط کشت MS با ۰/۶ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA، ۰/۱ میلی گرم در لیتر BAP و محیط بدون هورمون تکثیر کردند که این غلظت از هورمون ها به ترتیب برای استقرار، تکثیر و ریشه زایی مناسب بودند. بالاترین میانگین تعداد شاخساره و عامل های مؤثر بر افزایش در محیط های MS با ۰/۲ میلی گرم در لیتر IBA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر BAP مشاهده شد (Hashem & Kaviani, 2018; Kalimuthu, 2010).

تعداد برگ و قطر گیاه مادری و تعداد برگ گیاه باززایی شده

استفاده از تیمارهای سایتوکینینی به طور معنی داری تعداد برگ گیاهان مادری را در پایان آزمایش نسبت به شاهد که توسط آب مقطر محلول پاشی شده بود افزایش دادند درحالی که در دیگر تیمارها اثر تیمار در تعداد برگ تا حدی کاهش بود. محتوای کلروفیل برگ گیاهان مادری نشان می دهد که به غیر از تیمار قارچ، سایر تیمارها به ویژه تیمار با سایتوکینین محتوای کلروفیل برگ را بهبود بخشیدند. اما جالب این است که در گیاهان باززایی شده میزان کلروفیل در تیمار قارچ و دو تیمار مجزای سایتوکینین نسبت به شاهد معنی دار نبود اما تیمار ترکیبی سایتوکینین به همراه حذف جوانه انتهایی تا حدودی میزان سبزینه برگ در گیاهان باززایی شده را نسبت به شاهد بهبود بخشید (شکل ۴).

بیشترین تعداد برگ در گیاهانی که با سایتوکینین به تنهایی تیمار شده بودند مشاهده شد. این اثر مربوط به نقش سایتوکینین در افزایش تقسیم یاخته ای، بزرگ شدن یاخته و توزیع مواد جذب شده در گیاهان است (Carey, 2008). پیش تر اثر کاربرد خارجی سایتوکینین در افزایش محتوای کلروفیل در کلروپلاست به اثبات رسیده بود (Davies, 2004). به نظر می رسد کنترل چیرگی انتهایی در تمامی تیمارها به غیر از تیمار قارچ منجر به محدود شدن رویش انتهایی و تجمع سبزینه در برگ های باقی مانده می شود، این در حالی است که در تیمار قارچ با وجود توقف چیرگی انتهایی وجود قارچ اثر منفی در میزان سبزینه برگ های گیاه مادری داشته است اما اثر آن در پاجیاها نسبت به شاهد متفاوت نبود.





شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف (A: شاهد، B: سوراخ کردن طوقه، C: بنزیل آدنین ۵۰ میکرومولار، D: بنزیل آدنین ۵۰۰ میکرومولار، E: حذف جوانه انتهایی، F: حذف جوانه انتهایی به همراه بنزیل آدنین ۵۰ میکرومولار، G: حذف جوانه انتهایی به همراه بنزیل آدنین ۵۰۰ میکرومولار، H: قارچ) بر محتوای کلروفیل گیاه باززایی و محتوای کلروفیل گیاه مادری. حروف غیرمشترک بیان‌کننده تفاوت معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ با استفاده از آزمون LSD است. خطای استاندارد روی هر ستون آمده است.

Figure 4- Effects of different treatment (A: control plant, B: crown wounding, C: 50 μ M of BA, D: 500 μ M of BA, E: Removal of apical shoots, F: Removal of apical shoots + 50 μ M of BA, G: Removal of apical shoots + 500 μ M of BA, H: fungi treatment) on total chlorophyll content of offsets and their corresponding mother plant. Different letters represent significant differences ($P \leq 0.05$) with LSD test. Standard error is shown on each bar.

نتیجه‌گیری

درمجموع با توجه به اینکه تیمار ترکیبی حذف چیرگی انتهایی و تیمار ۵۰ میکرومولار بنزیل آدنین تا ۱/۵ برابر در افزایش تعداد پاگیاه و همچنین در بهبود ارتفاع، قطر و وزن پاگیاه‌های تولیدشده مؤثر است بنابراین می‌تواند تیماری قابل پیشنهاد برای تولید انواع سانسوریای ابلق باشد. کاربرد غلظت‌های بالاتر سائتوکینین از طرفی به دلیل هزینه بالاتر و از طرف دیگر به دلیل اثر غیر معنی‌داری در بهبود تولید پاگیاه قابل پیشنهاد نیست. اگرچه که این آزمایش روی گونه‌های غیر ابلق انجام شد اما به دلیل وجود فیزیولوژی نموی مشابه، روی ارقام مختلف این گیاه قابل پیشنهاد است.

منابع

- Amling, J.W., Keever, G.J., Kessler, J.R.J., Eakes, D.J. (2007). Benzyl Adenine (BA) promotes ramet formation in *Hemerocallis itrina*. *Journal of Environment and Horticulture*, 25, 9-12.
- Arnold MA. (2004) *Sansevieria trifasciata*. In: Landscape plants for Texas and environments, Third Edition, Stipes Publishing, USA.
- Booker, J., Chatfield, S., Leyser, O. (2003). Auxin acts in xylem-associated or medullary cells to mediate apical dominance. *The Plant Cell*, 15, 495-507.
- Burrows, G.E., Doley, D.D., Haines, R.J., Nikles, D.G. (1988). In vitro propagation of *Araucaria cunninghamii* and other species of the Araucariaceae via axillary meristems. *Australian Journal of Botany*, 36, 665-676.
- Carey, D., Whipker, B., Mc-Call, I., Buhler, W. (2008). Benzyl adenine foliar sprays increase offsets in *Sempervivum* and *Echeveria*. *HortScience*, 53, 19-21.
- Chatfield, S.P., Stirnberg, P., Forde, B.G., Leyser, O. (2000). The hormonal regulation of axillary bud growth in *Arabidopsis*. *The Plant Journal* 24(2), 159-169.
- Choudhary, A.K., Ray, A.K., Jha, S., Mishra, IN. (2011). Callus formation, shoot initiation and in vitro culture of *Aloe vera*. *Biotechnology, Bioinformatics and Bioengineering*, 1(4), 551-553.
- Cline, M.G. (1996). Exogenous auxin effects on lateral bud outgrowth in decapitated shoots. *Annual Botany*, 78, 255-266.
- Daneshvar, M.H., Moallemi, N., Zadeh, N.A. (2013). The effects of different media on shoot proliferation from the shoot tip of *Aloe vera* L. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 8, 93-97.



- Domagalska, M.A., Leyser, O. (2011). Signal integration in the control of shoot branching. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 12, 211-221.
- Duan, H., Pei, Y.L., Deng, M.L.Y., Xiao, L.K., Smith, L.L., McAvoy, W., Zhao, R.J.D., Zheng, X., Thammina, C. (2006). Auxin, cytokinin and abscisic acid: Biosynthetic and catabolic genes and their potential applications in ornamental crops. *Journal of Crops Improvement*, 347-364. doi.org/10.1300/J411v18n01_03.
- El-Ghamery, A.A. Mousa, M. (2017). Investigation on the effect of benzyladenine on the germination, radicle growth and meristematic cells of *Nigella sativa* L. and *Allium cepa* L. *Annals of Agricultural Sciences*, 62, 11-21.
- Ferguson, B.J., Beveridge, C.A. (2009). Roles for auxin, cytokinin, and strigolactone in regulating shoot branching. *Plant Physiology*, 149, 1929-1944.
- Garner, J.M., Keever, G.J., Eakes, D.J., Keesler, J.R. (1998). Sequential BA application enhance offset formation in *Hosta*. *HortScience*, 33, 707-709.
- Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, F.T., Geneve, R. (2002). *Plant Propagation Principle and Practices*. 7th edition, Prentice Hall International. Englewood Cliffs. New York, USA.
- Hashem AD, Kaviani B. (2010) In vitro proliferation of an important medicinal plant Aloe – A method for rapid production. *Australian Journal of Crop Science* 4, 216-222.
- Hazrati, S., Sarvestani, Z.T., Babaei, A. (2012). Enhancing yield and aloin concentration of *Aloe vera* plants by simultaneous application of N and benzyladenine. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6, 1834-1841.
- Iizumi, M., Amaki, W. (2011). Micropropagation of *Haworthia cymbiformis* through Thin-Cell-Layer Tissue Culture®. In *Combined Proceedings International Plant Propagator's Society*, p. 288.
- Kalimuthu, K., Vijayakumar, S., Senthilkumar, R.R., Suresh, K.M. (2010). Micropropagation of *Aloe vera* Linn. - a medicinal plant. *International Journal of Biotechnology and Biochemistry*, 6, 405-410.
- Kerstetter, R.A., Hake, S. (1997). Shoot meristem formation in vegetative development. *Plant Cell*, 9, 1001-1010.
- Khalighi, A., Hojati, Y., Babalar, M., Naderi, R. (2005). Effects on nutrition solutions, cytokine and soil texture on bulb growth, quality of bulb and number of bulblet in Draw in hybrid tulip Apeldoorn. *Journal of Pajoush Sazandegi*, 73, 58-64.
- Khanam, M., Sharma, G.K. (2014). Rapid in vitro propagation of *Aloe vera* L. with some growth regulators using lateral shoots as explants. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3(3), 2278-4357.
- Kiran, S., Tirkey, A., Jha, Z., Porte, S.S. (2017). In vitro regeneration of *Aloe vera* (*Aloe barbadensis* Mill). *International Journal of Current Microbiology and Applied Science*, 6, 1829-1834.
- Ljung, K., Bhalerao, R.P., Sandberg, G. (2001). Sites and homeostatic control of auxin biosynthesis in *Arabidopsis* during vegetative growth. *The Plant Journal*, 28(4), 465-474.
- Mimaki, Y., Inoue, T., Kuroda, M., Sashida, Y. (1996). Steroidal saponins from *Sansevieria trifasciata*. *Phytochemistry*, 43, 1325-1331.
- Müller, D. Leyser, O. (2011) Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. *Annual Botany London*, 107, 1203-1212.
- Nahed, G., Aziz, E. (2007) Stimulatory Effect of NPK Fertilizer and Benzyladenine on Growth and Chemical Constituents of *Codiaeum variegatum* L. Plant. *Am-Eurasian. Journal of Environmental Science*, 2, 711-719.
- Relf, D., Ball, E.C. (2019). Propagation by cuttings, layering and division. Virginia Cooperative Extension. Virginia Tech. Virginia State University. VT/0919/426-002.
- SalehiSardoei, A., Sarhadi, H., RohanyYazdi, M., Arbabi, M., Jahantigh, M. (2013) Effect of gibberellic acid and benzyladenine growth regulators on offsets production of *Aloe Barbadensis* at greenhouse conditions. *International Journal of Advance Biological and Biomedical Research* 1, 1457-1465.
- Shimizu-Sato, S., Mori, H. (2001). Control of outgrowth and dormancy in axillary buds. *Plant Physiology*, 127, 1405-1413.
- Shimizu-Sato, S., Tanaka, M., Mori, H. (2009). Auxin-cytokinin interactions in the control of shoot branching. *Plant Molecular Biology*, 69(4), 429-435.
- Shudo, K. (1994). Chemistry of phenyl urea cytokinins. pp. 35-42, In: D. Y. Mook and M. C. Mok (Eds.) *Cytokinins Chemistry Activity and Function*, CRC Press, Boca Raton.
- Sreenivasan, V., Somasundaram, S., Ravindran, D., Manikandan, V., Narayanasamy, R. (2011). Microstructural, physico-chemical and mechanical characterisation of *Sansevieria cylindrical* bres- An exploratory investigation. *Materials and Design*, 32, 453-461.
- Surafel, S., Gamachu, O., Abel, D. (2018) In vitro propagation of *Aloe vera* Linn from shoot tip culture. *GSC Biological and Pharmaceutical Science* 4, 001-006.
- Takawira, R., Nordal, I. (2001). The genus *Sansevieria* (family Dracaenaceae) in Zimbabwe. In: XX International Eucarpia Symposium, Section Ornamentals, Strategies for New Ornamentals-Part II 572, pp 189-198.



- Tcheegnitegni, B.T., Teponno, R.B., Jenett-Siems, K., Melzig, M.F., Miyamoto, T., Tapondjou, L.A. (2017). A dihydrochalcone derivative and further steroidal saponins from *Sansevieria trifasciata* Prain Zeitschrift fur Naturforschung C. *Journal of Biosciences*, 72, 477-482. doi:10.1515/znc-2017-0027
- Teponno, R.B., Tanaka, C., Jie, B., Tapondjou, L.A., Miyamoto, T. (2016). Trifasciatosides A-J, Steroidal Saponins from *Sansevieria trifasciata*. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 64, 1347-1355. doi:10.1248/cpb.c1600337.
- Wolverton, B.C., Johnson, A., Bounds, K. (1989). Interior landscape plants for indoor air pollution abatement. NTRS - NASA Technical Reports Server.
- Zhang, N. Hasenstein, H. (1999). Initiation and elongation of lateral roots in *Lactuca sativa*. *International Journal of Plant Science*, 160, 511-519.





Disturbance in apical dominance results in offsets production improvement of dwarf snake plant

Matin Kazemzadeh Behnamirei, Mostafa K. Sarmast*, Zahra Rezaei Ghaleh

Department of Horticultural Science and Landscape Engineering, Faculty of Plant Production, Gorgan
University of Agricultural Sciences and Natural Resources (GUASNR), Gorgan, Golestan, Iran

✉ mkhsarmast@gau.ac.ir

Received: 2022/06/11, Revised: 2022/08/21, Accepted: 2022/09/20

Abstract

The clonal propagation of ornamental plants, especially in chimeric species is very important. Since the only way to propagate chimeric *Sansevieria* is a rhizome-derived offset propagation, therefore the improvement of the aforementioned clonal propagation method is of prime importance. For this purpose, in this study, the apical dominance of this species was impaired through the application of 6-Benzylaminopurine (6-BA) and different wounding methods. The experiment was performed under greenhouse conditions and in plastic pots on *Sansevieria trifasciata* 'Hahnii'. The results indicated that the use of combination treatment of removal of apical shoots along with foliar application of 50 μ M 6-BA significantly increases the number of offsets. This treatment also had a much better effect on improving the height, diameter and weight of offsets than other treatments and control plants. It seems that high concentrations of cytokinin have a negative effect on regeneration and utilizing lower concentrations has a minor effect on inhibiting apical dominance. It is recommended that removal of apical shoots along with exogenous application of 50 μ M BA resulted in a 1.5% increase and this treatment is able to increase the number of roots and weight of regenerated offsets twice.

Keywords: Apical meristem, BA, Clonal propagation, Rhizome.