

ارزیابی نوع قلمه برگی، بستر کشت بدون خاک و ریزنمونه‌های برگ در تولید سانسوریای ابلق در شرایط درون/برون شیشه‌ای

مصطفی خوشحال سرمست*، متین دولتی، مریم عباس آبادعربی، اسماعیل سیفی، مهدی علیزاده

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

✉ mkhsarmast@gau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۴/۶، تاریخ بازنگری: ۱۴۰۱/۵/۳۱، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۶/۴

چکیده

افزایش انبوه با حفظ ویژگی‌های ژنتیکی، هدف افزایش همگرومی گیاهان زینتی است. از میان گونه‌های زینتی، گیاهان بافت ناهمسان برای ظاهر جذاب، همیشه موردتوجه بوده‌اند. گیاه برگساره‌ای سانسوریا، به دلیل داشتن برگ‌های گوشتی و تحمل بیشتر به شرایط نامناسب محیطی، برای نگهداری در شرایط درون خانه بسیار مناسب است. افزایش همگرومی این گیاه با استفاده از نیاگ و پاکیه صورت می‌گیرد. هدف از این پژوهش ارزیابی نوع قلمه برگ و آمیخته خاکی در باززایی گیاه ابلق در شرایط گلخانه و همچنین افزایش درون شیشه‌ای گیاهان ابلق سانسوریای پاکوتاه بود. نتایج آزمایش‌های انجام‌شده در گلخانه نشان‌دهنده این است که نوع قلمه برگ در انگیزش گیاه بافت ناهمسان بی‌تأثیر است. استفاده از بستر کوکوپیت به همراه پرلایت منجر به تولید تعداد ریشه بیشتر در گیاهان باززایی شده گردید اما با این وجود در مقایسه با بستر پرلایت تنها، تأثیری در بهبود شاخه‌زایی قلمه برگ سانسوریا نداشت. نتایج نشان‌دهنده این است که ایجاد برش V وارونه در انتهای نزد پاهنگ قلمه برگ تأثیر معنی‌داری روی باززایی گیاه از قسمت ابلق نزد پاهنگ قلمه برگ ندارد. بررسی‌های درون شیشه‌ای به کمک تنظیم‌کننده رشد توفوردی و کایتین نشان داد که ریز نمونه‌هایی که به مدت ۲۰ روز در محیط دارای ۰/۳۵ میلی‌گرم در لیتر توفوردی کشت شده و سپس به محیط دارای کایتین منتقل شده‌اند، از میانگین تعداد شاخساره بالاتری برخوردارند. اگرچه که استفاده از ریزنمونه برگ گرفته‌شده از قسمت سبز-ابلق در انگیزش گیاهان بافت ناهمسان مؤثر نبود با این وجود برخی از جهش‌های پلاستییدی رخ داده منجر به تولید گیاهان زال شد. گیاهان باززایی شده با برگ‌های سبز نابلق با بازده ۱۰۰٪ در شرایط گلخانه زیر سیستم مه‌پاش سازگار شدند. در مجموع، به دلیل تشکیل مریستم نو از لایه‌های داخلی‌تر بافت ناهمسان برگ، تشکیل گیاهان بافت ناهمسان شبیه به گیاه مادری در این بررسی درون و برون شیشه‌ای میسر نشد.

واژه‌های کلیدی: بافت ناهمسان، پرآوری، سانسوریا، قلمه برگ، 2,4-D.

مقدمه

سانسوریا با نام علمی *Sansevieria trifasciata* L. به دلیل برگ‌های کشیده، گوشتی و جذاب و به دلیل مقاومت بالا به

شرایط محیطی و سازگاری با شرایط خانه، امروزه به میزان گسترده‌ای مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گیاه افزون بر ارزش زینتی، در برگ خود دارای الیاف است (García-Hernández *et al.*, 2022) که برای ساخت طناب، کلاه، لباس و مصارف دیگر استفاده می‌شود. از شیر نسیاگ و ریشه آن در پزشکی استفاده می‌شود (Byrom, 1951). بیشتر گونه‌های تجاری سانسوریا متعلق به *S. trifasciata* می‌باشند.

ریزافزایی روشی برای تولید انبوه گیاهان عاری از بیماری در شرایط درون شیشه‌ای است. حفظ پایداری هم‌گروهی مهم‌ترین موضوعی است که در افزایش ریشی مطرح است. در گونه‌های بافت ناهمسان، شناخت ساختار بافت ناهمسان تا حدی در کاهش تغییرات ژنتیکی که در افزایش از مسیر باززایی نابجا رخ می‌دهد تأثیرگذار است. در بیشتر نهان‌دانگان، مریستم شاخساره از دو لایه که کورپوس^۱ را پوشانده‌اند تشکیل می‌شود که معروف به لایه‌های L1 و L2 هستند که به ترتیب تبدیل به روپوست و پوست^۲ ساقه می‌شوند. بیشتر جهش‌ها در این دولایه خارجی رخ می‌دهد و لایه کورپوس که نابافت ناهمسان (بافت همسان) است منشأ بیشتر تغییراتی است که طی باززایی نابجه‌جا رخ می‌دهد (Donnelly & Ortiz-Medina, 2005). افزایش گیاهان تیره کراسولا و صبرزرد در محیط دارای 2,4-D و بنزیل آدنین گزارش شده است (Ferrolo *et al.*, 2002; Ioannou and Ioannou, 1992). در یک مطالعه برای افزایش درون شیشه‌ای سانسوریای پابلند از 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) برای انگیزش اولیه و پس از وقفه یک هفته‌ای، تولید گیاهک به کمک تنظیم‌کننده رشد کایتین میسر شد (Blazich & Novitzky, 1984; Torres, 1989). در سال ۲۰۰۶ (Wahyuningsih, 2006) گزارش دیگری برای باززایی درون شیشه‌ای سانسوریای ابلق منتشر شد که در محیط MS (Murashige & Skoog, 1962) از قطعه-های برگ یک‌سانتی متری در تماس با بنزیل آدنین و کایتین استفاده نمودند. اما از میزان گیاهان بالغ ابلق تولیدشده گزارشی منتشر نکردند. همچنین در گزارشی دیگر سانسوریای پاکوتاه به‌وسیله غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده رشد بنزیل آدنین، تحریک به تولید شاخساره‌های نابجه‌جا شد (Weltcheve & Svetleva, 2005). در گزارشی توانایی قسمت‌های مختلف برگ سانسوریای سبز در شرایط درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت (Sarmast *et al.*, 2009). در این گزارش پیش تیمار ریزنمونه‌های برگ با 2,4-D به مدت ۳ هفته و سپس قرار دادن ریزنمونه‌های برگ در محیط دارای ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر کایتین به بالاترین باززایی شاخساره نابجه‌جا منجر شد. در ادامه این شاخساره‌ها به کمک فروبری سریع در تنظیم‌کننده رشد Indole-3-butyric acid (IBA) ریشه‌دار و سپس سازگار شدند (Sarmast *et al.*, 2009). در ریزافزایی گونه سانسوریای سیلندری^۳، از دو تنظیم‌کننده رشد 2,4-D و IBA استفاده شد که منجر به تشکیل پینه و ساختارهای گره مانند روی قلمه‌های برگ شد. استفاده از ۵ میکرومولار بنزیل آدنین و ۲ میکرومولار نفتالن استیک اسید منجر به تولید ۱۷ شاخساره در هر ریز نمونه گردید. محیط کشت نیمه جامد دارای ۵ میکرومولار ایندول بوتریک اسید در گزارش آن‌ها به‌طور میانگین ۳/۵ ریشه در هر ریز نمونه با میانگین طول ۶ سانتی‌متر تولید نمود (Shahzad *et al.*, 2009). در مطالعه‌ای دیگر به‌وسیله Yusnita و همکاران (۲۰۱۱)، دو نژادگان پاکوتاه و پابلند سانسوریای سبز برای ریزافزایی در محیط کشت موراشیگ و اسکوک (MS) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ریزنمونه‌های برگ به مدت یک هفته در محیط دارای 2,4-D نگهداری شدند و پس



از یک دوره استراحت یک هفته‌ای به محیط دارای بنزیل آدنین با غلظت‌های مختلف منتقل شدند. به طور متوسط از ۱۲ تا ۹ گیاهک در هر ریزنمونه سانسوریای بلند و کوتاه به ترتیب تولید شد که در ادامه به کمک ۲ میلی گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید ریشه‌دار شدند. گیاهان ریشه‌دار شده با راندمان نزدیک به ۱۰۰ درصد در آمیخته‌های خاکی مستقر شدند. (Frank & Chitwood, 2016) متأسفانه گزارش قابل دسترسی از افزایش درون شیشه‌ای سانسوریای ابلق در منابع علمی موجود نیست و این موضوع ضرورت پژوهش و یافتن یک روش کارا در ریز افزایش اقتصادی این گیاه را بیش از پیش آشکار می‌کند.

به دلیل وجود بافت ناهمسان از نوع پریکلینال در این گونه‌ی سانسوریا، تکثیر آن با قلمه برگ با موفقیت محدودی در تولید گونه‌های ابلق همراه بوده است. بنابراین در این پژوهش نوع قلمه برگ در آمیخته خاکی و همچنین بهترین ریزنمونه گیاهی و تیمار تنظیم‌کننده رشد برای رسیدن به حداکثر گیاهان ابلق دنبال می‌شود. نظر به پایین بودن راندمان تولید گیاهان ابلق با استفاده از روش تقسیم بوته در سانسوریا ابلق، معرفی روش‌های جایگزین که با راندمان بالایی به تولید گیاهان ابلق پایدار منجر شود حیاتی و سودآور خواهد بود. گزارش معتبر از ارزیابی نوع ریزنمونه در شرایط کشت درون شیشه‌ای و کشت گلخانه‌ای سانسوریای ابلق در ایران در دسترس نیست و مشخص نیست که آیا کشت بافت راندمان باززایی بهتری در مقایسه با کشت گلخانه‌ای دارد یا خیر و راندمان گیاهان تولیدشده از یک برگ بالغ این گیاه نیز در دسترس نیست. بنابراین هدف این پژوهش امکان‌سنجی تولید گیاهان سانسوریای ابلق در شرایط گلخانه در بستر آمیخته خاکی و همچنین تولید گیاهان بافت ناهمسان در شرایط کشت درون شیشه‌ای بود.

موارد و روش‌ها

مواد گیاهی

این پژوهش در شرایط محیطی درون گلخانه بر روی *Sansevieria trifasciata* var. *laurentii* و در شرایط کشت درون شیشه‌ای روی رقم پاکوتاه ابلق *Sansevieria trifasciata* cv. *Golden Hahnii* انجام شد. گیاهان بالغ بافت ناهمسان از گلخانه‌ای تجاری خریداری شدند.

آزمایش اول: اثر نوع قلمه برگ و آمیخته خاکی

تیمارهای مورد استفاده در کشت گلخانه شامل ۳ محیط کشت پرلایت خالص و درشت، پرلایت با اندازه متوسط و نسبت برابری از کوکوپیت و پرلایت با اندازه متوسط (۱ به ۱ حجمی) بود. آمیخته‌های خاکی به صورت مجزا و با فاصله از یکدیگر بر روی شاسی گلخانه جای داده شدند. پس از مشاهده نتایج اولیه، در آزمایش‌های بعدی گلخانه‌ای، از بهترین آمیخته استفاده شد. در این آزمایش‌ها از آمیخته‌های خاکی استریل شده استفاده شد. از گلخانه مجهز به سیستم پاگرم و مه‌پاش برای افزایش گیاه استفاده شد. میزان پاشش سیستم مه‌پاش دو مرتبه در ساعت و به مدت ۸ ثانیه در نظر گرفته شد. تیمار دوم شامل استفاده از دو نوع قلمه برگ ساده با طول ۱۰ سانتی‌متر و قلمه برگ با برش V وارونه (برش در قلمه برگ به شکلی انجام شد که قسمت سبز برگ در ته قلمه برگ حذف و دو انتهای بافت ناهمسان باقی بماند).

آزمایش دوم: قلمه‌ها به تقریب ۱۰ سانتی‌متر پس از برش با تیغ تمیز، به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۵ میلی گرم در لیتر قارچکش بنومیل غوطه‌ور شدند. سپس به مدت ۲۰ ساعت روی روزنامه تمیز قرار گرفتند تا خشک شوند و کشت شدند. قلمه‌ها به اندازه نصف طول خود در آمیخته‌های خاکی پرلایت یا پیت و پرلایت فرو برده شدند. بستر کاشت پیش از کاشت قلمه‌ها با



آب آبیاری مرطوب شده بود. قلمه‌های برگ در اسفند ماه ۹۸ در گلخانه کشت شدند. در آزمایش‌های گلخانه‌ای از سه تکرار برای هر تیمار و در هر تکرار از ۷ قلمه برگ استفاده شد. برای اطمینان از نتایج به‌دست‌آمده، آزمایش‌های بخش گلخانه‌ای دوبار به‌طور مستقل تکرار شد. تعداد شاخساره‌های باززایی شده از هر قلمه برگ، طول و عرض شاخساره، تعداد ریشه اصلی و فرعی روی گیاه باززایی شده، تعداد ریشه تشکیل‌شده روی قلمه اصلی و تعداد گیاهان تشکیل‌شده در قسمت سبز یا بافت ناهمسان قلمه ساده و V وارونه از جمله داده‌های ثبت‌شده بود. واکاوی داده‌ها با آزمون T-test و به کمک آخرین نسخه نرم افزار R (4.3.0) انجام شد.

گندزدایی سطحی و انگیزش پینه

برگ‌های گیاه بافت ناهمسان سانسوریا پاکوتاه طلایی *Sansevieria trifasciata* cv. Golden Hahnii به قطعه‌های ۸ سانتی‌متری بریده شدند. ابتدا به مدت ۱۰ دقیقه در مایع ظرف‌شویی (۳ قطره در یک لیتر) غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها در محلول اتانول ۷۰٪ به مدت ۳ دقیقه و سپس در محلول کلراکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه در زیر هود کشت بافت تیمار شدند. قطعه‌های برگ دستکم ۶ بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. با استفاده از تیغ جراحی استریل، قطعه‌های ۱ سانتی‌متر مربعی از روی این قطعه‌های برگ بریده شدند و در محیط MS کشت شدند. در مجموع دو نوع ریزنمونه متفاوت برای این پژوهش استفاده شد. ریزنمونه‌هایی که به‌طور کامل از قسمت بافت ناهمسان حاشیه برگ‌های سانسوریا تهیه شد و ریزنمونه‌هایی که هم دارای ناحیه بافت ناهمسان و هم دارای ناحیه سبز بودند (شکل ۱). این ریزنمونه‌ها روی سطح محیط کشت به شکلی که ناحیه برش‌خورده در تماس با محیط کشت قرار گیرد خوابانده شدند. برای انگیزش پینه از تنظیم‌کننده رشد 2,4-D در ۳ غلظت ۰/۳۵، ۰/۷ و ۱/۴ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. پس از گذشت سه هفته و مشاهده نشانه‌های انگیزش پینه، ریزنمونه‌ها به محیط حاوی غلظت‌های مختلف کایتین (Sarmast et al. 2009) برای باززایی منتقل شدند.



شکل ۱- دو نوع قلمه برگ (تصویر سمت چپ) و سه نوع ریزنمونه برگ برای کشت درون شیشه‌ای (تصویر سمت راست).

Figure 1- Two types of leaf cuttings (left) and three types of explants for *in vitro* culture (right).

سازگاری

گیاهان باززایی شده با طول شاخساره بیش از ۵ سانتی‌متر از محیط آگار جدا شدند. ریشه‌ها به کمک آب ولرم از آلودگی آگار پاک شدند و سپس در آمیخته خاکی دارای کوکوپیت و پرلایت و زیر سیستم مه‌پاش سازگار شدند. در آزمایش‌های کشت بافتی از ۴ تکرار برای هر تیمار و ۵ ریزنمونه برگ برای هر تکرار استفاده شد. واکاوی داده‌ها با آزمون T-test و LSD و به کمک آخرین نسخه نرم افزار آر (4.3.0) انجام شد.

نتایج

اثر نوع قلمه برگ در انگیزش گیاهان بافت ناهمسان در آمیخته‌های خاکی

در بررسی‌هایی که روی دو نوع قلمه برگ متفاوت (قلمه ساده و قلمه‌های با برش V وارونه) در بیش از ۲۰۰ قلمه برگ سانسوریا در دو آزمایش جداگانه انجام شد، هیچ نشانه‌ای از اثرگذاری نوع قلمه برگ در انگیزش گیاهان بافت ناهمسان مشاهده نشد. بنابراین این آزمایش، فرضیه اینکه نوع قلمه و به‌ویژه اینکه استفاده از قلمه‌های معروف به قلمه‌های با برش ته هشتی یا V وارونه احتمال تولید گیاهان بافت ناهمسان را افزایش می‌دهد، رد می‌نماید. حتی گیاهان باززایی شده از قسمت‌های بافت ناهمسان نیز تنها گیاهان غیر بافت ناهمسان (گیاهان سبز) تولید نمودند (شکل ۲). تنها ۱٪ گیاهان باززایی شده گیاه به‌طور کامل ابلق تولید نمودند که به‌جای دو نوار زرد در اطراف برگ، دارای برگ ابلق و زرد بودند (شکل ۳-الف).



شکل ۲- گیاهان سبز باززایی شده از قسمت بافت ناهمسان. فلش‌های مشکی در پایین تصویر منشأ گیاهان باززایی شده از قسمت زرد را نشان می‌دهد.

Figure 2- Representatives of regenerated green plants originated from chimeric tissue. Black arrows indicating the origin of regeneration from the yellow section of the leaf.

بررسی اثر آمیخته‌های خاکی متفاوت در راندمان باززایی قلمه برگ سانسوریا

با توجه به اینکه در پژوهش‌های صورت گرفته در داخل و خارج از کشور، مطالعه‌ای روی اثر بسترهای متفاوت بدون خاک در باززایی قلمه برگ سانسوریا موجود نبود، تصمیم گرفته شد در یک آزمایش مقدماتی اثر چند آمیخته خاکی در باززایی سانسوریا ابلق بررسی شود. بررسی‌های صورت گرفته بیانگر آن است که پس از گذشت ۸ ماه از زمان کشت قلمه‌ها، بسترهای حاوی پرلایت متوسط و کوکوپیت و پرلایت در مقایسه با بستر پرلایت درشت به‌مراتب تعداد شاخساره‌های بیشتر را باززایی نمودند. همچنین طول شاخساره‌های تولیدشده نیز در این دو محیط کشت بالاتر از محیط دارای پرلایت درشت بود هرچند که اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (جدول ۱).

به نظر می‌رسد که میزان در دسترس بودن آب و یا تأمین آب در قلمه‌های کشت‌شده در بستر دارای پرلایت درشت به دلیل قدرت بسیار پایین در نگهداری آب، کمتر بود. به عبارتی هراندازه که تجمع رطوبت سبب آسیب به قلمه و ریشه‌های تازه تشکیل‌شده می‌شود، به همان اندازه هم بستر کشت حاوی ذرات درشت که قادر به نگهداری مناسب آب نیستند، سبب محدودیت ریشه‌زایی و تولید شاخساره در قلمه‌ی کشت‌شده می‌شوند.

جدول ۱- بررسی سه آمیخته خاکی متفاوت در روی تعداد و طول شاخساره‌های باززایی شده قلمه برگ سانسوریا پس از ۶ ماه.

Table 1- Effects of three different soil mixtures on length and number of shoots after 6 months of cultures.

تیمارها Treatments	میانگین تولید شاخساره The mean of shoot production	ارتفاع گیاهان تولید شده (cm) Shoot height of regenerated plants (cm)
پرلایت درشت Big-sized Perlite	1.6	14.7
پرلایت متوسط Medium-sized Perlite	3**	17.8
کوکوپیت + پرلایت Cocopeat+Perlite	3**	16.1

ns عدم معنی داری و ** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۱، آزمون T-test در نرم‌افزار آر در مقایسه با بستر پرلایت درشت انجام شد.

ns, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01, respectively based on T-test on R software.

اثر نوع قلمه برگ بر قدرت باززایی گیاهان دختری

محیط کوکوپیت و پرلایت

بررسی‌های انجام‌شده در خصوص اثر دو نوع قلمه ساده و V وارونه روی ویژگی‌های ریخت‌شناسی شاخساره و ریشه‌های باززایی شده بیانگر آن است که تنها ارتفاع شاخساره‌های تولید شده و همچنین ریشه‌های تشکیل‌شده روی قلمه اصلی در دو نوع قلمه از نظر آماری تفاوت داشتند.

جدول ۲- اثر نوع قلمه برگ بر رابطه با برخی از ویژگی‌های مورفولوژیک گیاهان باززایی شده در بستر کوکوپیت و پرلایت.

Table 2- Effects of leaf cutting type on some morphological characteristics of regenerated plants grown on cocopeat and perlite.

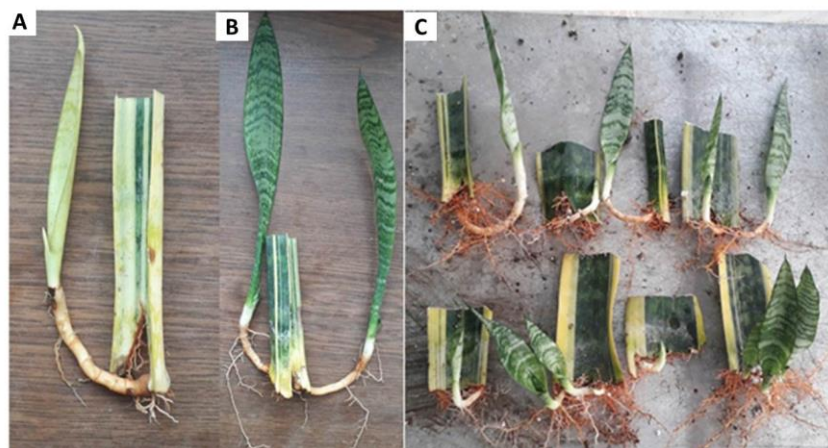
نوع قلمه Cutting type	تعداد Shoot number	طول شاخساره Shoot length (cm)	عرض شاخساره Shoot Width (cm)	تعداد ریشه اولیه روی گیاه Primary root number	تعداد ریشه فرعی روی گیاه Secondary root number	تعداد ریشه روی برگ گیاه مادری Root number on mother leaf cutting
قلمه ساده Simple leaf cutting	1.03 ^{ns}	22	2.3 ^{ns}	4.8 ^{ns}	34.3 ^{ns}	22.8
برش V وارونه Reversed V shaped	1.16	29.2**	2.7	6.59	35.6	36.5**

ns عدم معنی داری و * معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵، ** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۱، *** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۰۱ با استفاده از آزمون T-Test در نرم

افزار آر.

ns, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01, respectively based on T-test on R software.





شکل ۳- A: تولید گیاه ابلق زرد از ناحیه بافت ناهمسان قلمه های برگ. B: تولید گیاه غیر ابلق از ناحیه بافت ناهمسان. C: قلمه های برگ سانسوریا ابلق با برش V وارونه در بالا و قلمه های برگ با برش ساده در پایین تصویر.

Figure 3- A: Production yellow chimeric plants from chimeric section of leaf cutting B: production of non-chimeric plant from chimeric section. C: Representative of Sansevieria leaf cutting with inverted V like cuts (above), and leaf cutting with simple cut (bottom).

محیط پرلایت

بررسی های انجام شده در خصوص اثر نوع قلمه در محیط کشت دارای پرلایت نشان دهنده این است که تفاوت معنی داری بین گیاهان باززایی شده در قلمه ساده و قلمه V وارونه وجود ندارد. نکته جالب این که تعداد ریشه های تشکیل شده در قلمه دارای برش V وارونه بیشتر از قلمه ساده است. این موضوع به این دلیل است که در برش V وارونه ایجاد شده میزان سطح مقطع ایجاد شده نسبت به قلمه ساده بیشتر بوده و این موضوع توجیه کننده تولید ریشه بیشتر است. در محیط دارای پرلایت، افزایش ۱/۵ برابری در میزان باززایی شاخساره جدید در قلمه V وارونه نسبت به قلمه ساده ایجاد شد اما این افزایش از نظر آماری معنی داری نبود.

جدول ۳- اثر نوع قلمه برگ در باززایی گیاه در محیط کشت دارای بستر پرلایت.

Table 3- Effects of leaf cutting type on plant regeneration from perlite soil mixture.

نوع قلمه	تعداد شاخساره	طول شاخساره	عرض شاخساره	تعداد ریشه اولیه	تعداد ریشه فرعی	تعداد ریشه روی برگ
Cutting type	Shoot number	(cm)	(cm)	روی گیاه	روی گیاه	گیاه مادری
		Shoot length (cm)	Shoot Width (cm)	Primary root number	Secondary root number	Root number on mother leaf cutting
قلمه ساده						
Simple leaf cutting	1.1 ^{ns}	24.5 ^{ns}	2.5 ^{ns}	6.2 ^{ns}	54.6 ^{ns}	25.1
برش V وارونه						
Inverted V shaped	1.7	25.6	2.6	6.2	56.9	41.4**

ns عدم معنی داری و * معنی دار در سطح آماری ۰/۰۵، ** معنی دار در سطح آماری ۰/۰۱، *** معنی دار در سطح ۰/۰۰۱ با استفاده از آزمون T-Test در نرم افزار آر.

^{ns}, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01, respectively based on T-test on R software.

اثر محیط کشت بدون خاک در راندمان باززایی قلمه‌های سانسوریای ابلق

بدون توجه به نوع قلمه، اثر محیط کشت بر برخی از عوامل مرتبط با ریشه و شاخساره مورد بررسی قرار گرفت. نظر به اینکه در آزمایش‌های مقدماتی، استفاده از محیط دارای پرلایت درشت در رابطه با تولید شاخساره مؤثر نبود بنابراین در این آزمایش از محیط کشت پرلایت متوسط و محیط دارای کوکوپیت و پرلایت استفاده شد. نتایج بیانگر این است که نوع بستر استفاده‌شده در تعداد و طول شاخساره‌های باززایی شده بی‌تأثیر است اما تعداد ریشه‌های اولیه تشکیل‌شده در روی قلمه برگ اصلی و تعداد ریشه‌های فرعی تشکیل‌شده در گیاهان باززایی شده به شکل معنی‌داری در بستر پرلایت کمتر از بستر کوکوپیت و پرلایت می‌باشد.

جدول ۴- اثر نوع آمیخته خاکی بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاهان تولید شده پس از ۸ ماه از شروع کشت.

Table 4- Effects of soil mixture types on morphological characteristics of regenerated plants after 8 months of culture.

نوع آمیخته خاکی	تعداد شاخساره	طول شاخساره	عرض شاخساره	تعداد ریشه اولیه	تعداد ریشه فرعی	تعداد ریشه روی برگ
Type of soil mixture	Shoot number	(cm) Shoot length (cm)	(cm) Shoot Width (cm)	روی گیاه Primary root number	روی گیاه Secondary root number	گیاه مادری Root number on mother leaf cutting
پرلایت Perlite	1.1 ^{ns}	25.6 ^{ns}	2.55 ^{ns}	5.36 ^{ns}	34.9	29.7
کوکوپیت+پرلایت Cocopeat+perlite	1.43	24.2	2.54	6.22	55.8 ^{***}	33.3 ^{***}

* معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵، ** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۱، *** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۰۱ با استفاده از آزمون T-Test در نرم افزار آر.

^{ns}, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01, respectively based on T-test on R software.

اثر نوع قلمه برگ بر میزان باززایی از قسمت بافت ناهمسان

نتایج به‌دست‌آمده از جدول ۵ بیانگر این است که تفاوت معنی‌داری در باززایی گیاه از قسمت سبز در قلمه‌های V وارونه و ساده وجود ندارد. به عبارت ساده‌تر ایجاد برش V وارونه در روی قلمه گیاهان بافت ناهمسان سانسوریا در افزایش باززایی از قسمت بافت ناهمسان (نوار زرد اطراف برگ) مؤثر نیست. اگرچه که میزان باززایی از قسمت بافت ناهمسان در قلمه V وارونه نسبت به قلمه ساده بیشتر است اما این مشاهده بر اساس آزمون T معنی‌دار نمی‌باشد. علاوه بر این تمامی گیاهان باززایی شده از قسمت بافت ناهمسان (زرد) حتی در قلمه‌های V وارونه (به جز یک مورد) قادر به تولید گیاهان ابلق نشدند.

بررسی گندزدایی سطحی و بررسی بقاء سه نوع ریز نمونه متفاوت در شرایط درون شیشه‌ای

نتایج گندزدایی سطحی نشان داد که استفاده از اتانول ۷۰٪ و کلراکس ۱۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه کاملاً در گندزدایی سطحی مؤثر عمل نموده است. نتایج بررسی‌های کشت درون شیشه‌ای بیانگر این است که از میان سه نوع ریز نمونه سبز، سبز و ابلق و ریزنمونه کاملاً ابلق استفاده‌شده (شکل ۱) در این پژوهش، ریز نمونه‌های به‌طور کامل ابلق (زرد رنگ) قادر به تولید پینه نبوده و پس از یک زیر کشت در محیط MS آبگز شده و از بین رفتند. وجود ۳۰ گرم در لیتر شکر نیز در ممانعت از آبگز

شده این ریز نمونه‌ها مؤثر نبود. در عوض ریزنمونه‌های سبز ابلق و ریز نمونه‌های سبز زنده ماندند و شروع به باززایی نمودند. با توجه به اینکه هدف این پژوهش انگیزش تولید گیاهان بافت ناهمسان بوده است، بنابراین در آزمایش‌های کشت بافتی تنها از ریزنمونه‌های دارای بافت سبز به همراه بافت ابلق (زرد) استفاده شد.

جدول ۵- راندمان باززایی گیاه از قسمت‌های بافت ناهمسان و غیر بافت ناهمسان در دو نوع قلمه برگ.

Table 5- Regeneration frequency from chimeric and non-chimeric section in two types of leaf cuttings.

نوع قلمه Cutting type	باززایی از قسمت سبز Regeneration from green section	باززایی از قسمت زرد Regeneration from yellow section
قلمه ساده Simple leaf cutting	2.4	0.44
برش V وارونه V shaped cutting	1.88 ^{ns}	0.77 ^{ns}

* معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۵، ** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۱، *** معنی‌دار در سطح آماری ۰/۰۰۱ با استفاده از آزمون T-Test در نرم افزار آر.

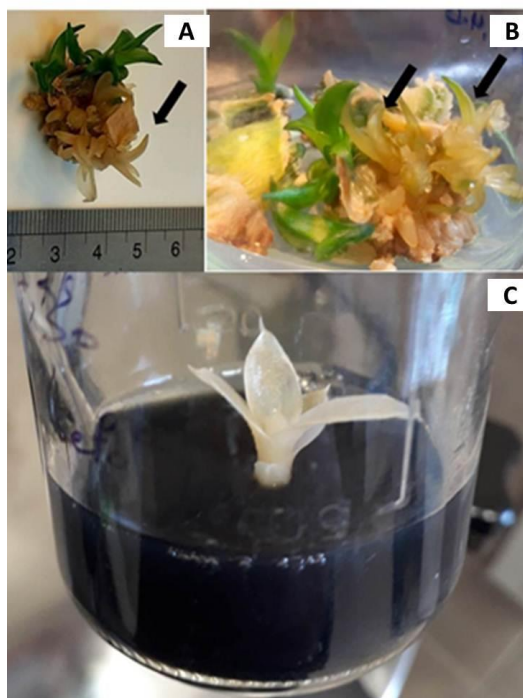
^{ns}, * and ** are non-significant and significant at 0.05 and 0.01, respectively based on T-test on R software.

امکان‌سنجی تولید گیاهان بافت ناهمسان در شرایط درون شیشه‌ای

بررسی‌های صورت گرفته بر روی قلمه برگ سانسوریای پاکوتاه ابلق در خصوص انگیزش تولید گیاهان بافت ناهمسان شبیه گیاه مادری با موفقیت همراه نبود. نظر به اینکه ریز نمونه‌های کاملاً سبز بر اساس گزارش‌های از پیش موجود (Sarmast et al., 2009) منجر به تولید گیاهان سبز می‌شدند، بنابراین از این ریز نمونه‌ها استفاده نشد. از طرفی ریز نمونه‌های گرفته‌شده از قسمت‌های کاملاً زرد قادر به تولید پینه نبودند و پس از یک زیر کشت خودبه‌خود از بین رفتند. بنابراین ریز نمونه‌های که هم قسمت زرد و هم قسمت سبز داشتند به‌عنوان ریز نمونه اصلی در این پژوهش استفاده شد. بررسی‌های انجام‌شده نشان می‌دهد که در موارد جزئی، از نواحی ابلق شاخساره‌های کاملاً ابلق قادر به باززایی خواهند بود. اما این شاخساره‌های زال حتی پس از گذشت ۱۵ ماه دارای سرعت رشد محدود بوده و زال باقی ماندند (شکل ۴).

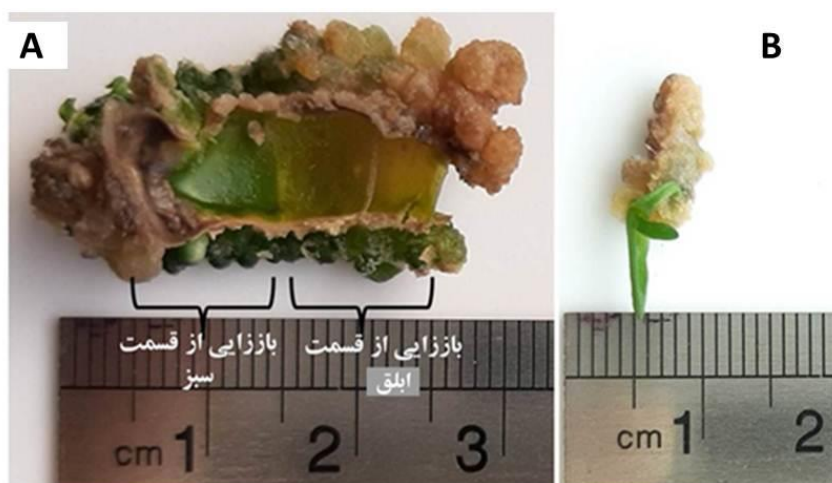
راندمان باززایی گیاهان سانسوریا در پاسخ به تنظیم‌کننده‌های رشد در شرایط درون شیشه‌ای

نتایج بررسی‌های اولیه حاکی از آن است که ریزنمونه‌ها در پاسخ به تنظیم‌کننده رشد اکسین پس از دو ماه پاسخ نشان داده و نشانه‌های باززایی و تولید پینه را از خود نشان می‌دهند. در ریز نمونه‌ها، هم اندام‌زایی مستقیم و هم غیرمستقیم قابل تشخیص بود (شکل ۵). نتایج بیانگر این است که اندام‌زایی مستقیم و غیرمستقیم در انگیزش تولید گیاهان بافت ناهمسان نقشی ندارد. به نظر می‌رسد که منشأ عمده گیاهان باززایی شده از قسمت داخلی‌تر اپیدرم باشد و این موضوع می‌تواند دلیلی بر تولید گیاهان با برگ سبز از قسمت‌های ابلق برگ در نظر گرفته شود. نتایج بیانگر این است که اختلاف معنی‌داری میان سه غلظت 2,4-D در وزن‌تر پینه تولیدشده وجود ندارد (جدول ۶).



شکل ۴- شاخساره‌های زال تشکیل شده از قسمت‌های بافت ناهمسان ریزنمونه‌ها. A و B: فلش‌های مشکی نشان‌دهنده گیاهان باززایی شده زال می‌باشد. توجه نمایید که گیاهان زال و سبز هر دو از روی یک ریزنمونه باززایی شده‌اند. C: گیاه جهش‌یافته بدون کلروفیل پس از گذشت ۱۵ ماه.

Figure 4- Produced albino shoots from chimeric section of explants. A, B: Black arrow represents regenerated albino plants. Note that albino and green plants both regenerated from the same explant. C: Mutated plants without chlorophyll after 15 months.



شکل ۵- A: اندام‌زایی مستقیم از ریزنمونه بافت ناهمسان. به باززایی از دو قسمت سبز و ابلق روی ریزنمونه توجه کنید. B: اندام‌زایی غیرمستقیم در ریزنمونه سانسوریا.

Figure 5- A: Direct organogenesis from chimeric sections. Note the regeneration of the two parts of green and chimeric on single explant. B. Indirect organogenesis from Sansevieria leaf explant.

جدول ۶- وزن تر پینه‌های تولید شده از ریز نمونه‌های بافت ناهمسان برگ ۳ ماه پس از کشت.

Table 6- Callus fresh weight of chimeric tissue after three months of culture.

وزن تر پینه (گرم)	2,4-D (میلی گرم در لیتر)
Callus fresh weight (g)	2,4-D (mg L ⁻¹)
1.20 ^a	0.35
1.74 ^a	0.7
1.32 ^a	1.4

میانگین‌ها از نظر آماری در سطح ۵٪ آزمون LSD تفاوت معنی‌داری ندارند.

Means are not significantly different at P=5%, LSD.

بیشترین میانگین تعداد پرآوری در هر ریزنمونه، مربوط به ریزنمونه‌هایی بود که ابتدا به مدت ۲۰ روز در محیط MS حاوی ۰/۳۵ میلی گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد 2,4-D بودند و سپس به محیط دارای کایتین (۰/۳ میلی گرم) منتقل شدند (شکل ۶). استفاده از غلظت‌های متفاوت 2,4-D بر روی طول شاخساره اثر معنی‌داری نداشت.

جدول ۷- میانگین طول و تعداد شاخساره پرآوری شده در ریز نمونه‌های کشت‌شده در محیط دارای 2,4-D به مدت ۲۰ روز و سپس کاشت در محیط مشابه دارای ۰/۳ میلی گرم در لیتر کایتین پس از ۵ ماه از شروع کشت.

Table 7- The mean number of proliferated shoots and their length on media supplemented with 2,4-D for 20 days and the same media with 0.3 mg/L Kin after 5 months of culture.

پرآوری شاخساره	طول شاخساره (cm)	کایتین (میلی گرم در لیتر)	2,4-D (میلی گرم در لیتر)
Shoot proliferation	Shoot length (cm)	Kin (mg L ⁻¹)	2,4-D (mg L ⁻¹)
6.7 ^a	1.97 ^a	0.3	0.35
3.3 ^b	1.64 ^a	0.3	0.7
1.8 ^c	1.83 ^a	0.3	1.4

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

In each column, means followed by similar letters are not significantly different at P=5%, LSD.



شکل ۶- گیاهک‌های پرآوری شده از ریز نمونه بافت ناهمسان گرفته‌شده از سانسوریا پاکوتاه. ریز نمونه‌ها به مدت ۲۰ روز در محیط دارای ۱/۴ میلی گرم در لیتر 2,4-D انگیزش و سپس به محیط دارای ۰/۳۵ میلی گرم در لیتر کایتین منتقل شدند.

Figure 6- Proliferated plantlets originated from chimeric explant of dwarf *Sansevieria*. Explants induced in media supplemented with 1.4 mg/L 2,4-D for 20 days whereupon transferred to media supplemented with 0.35 mg/L Kin.

ریشه‌زایی و بازده سازگاری گیاهان کشت بافتی

سانسوریا از دسته گیاهان آسان ریشه‌زا است (شکل ۷) و نگهداری گیاهان در محیط MS بدون تنظیم‌کننده رشد، منجر به ریشه‌زایی می‌شود. گیاهک‌های باززایی شده با ارتفاع بیش از ۵ سانتی‌متر به آمیخته‌های خاکی دارای پیت و پرلایت (نسبت ۱ به ۱) و مجهز به سیستم مه افشان منتقل شدند. نتایج نشان داد که ۱۰۰٪ گیاهان باززایی شده در محیط گلخانه سازگار شدند.



شکل ۷- گیاهک ریشه‌دار شده و آماده برای انتقال به آمیخته خاکی در گلخانه (A)، (B): گیاهان کشت بافتی سازگار شده در آمیخته خاکی. C: گیاه ۱۶ ماه پس از شروع کشت.

Figure 7- Plantlets with roots prepared for transferring to soil mixture. A, B: Acclimatized plants C. Plants after 16 months of culture.

بحث

دو هدف اصلی افزایش هم‌گروهی گیاهان زینتی شامل تولید تعداد زیادی گیاه از گیاه مادری و هدف دوم حفظ ویژگی شبیه به اصل بودن در گیاهان باززایی شده با افزایش رویشی است. گیاهان زینتی بافت‌ناهمسان به دلیل تغییرات ژنتیکی ایجادشده در بافت‌های رویشی خود، اهمیت زیادی در گل‌کاری دارند (Frank & Chitwood, 2016). این ویژگی از آن جهت با اهمیت است که گیاهان بافت ناهمسان نسبت به گیاه مادری جذابیت ظاهری بالاتری دارند. نظر به اینکه افزایش جنسی این گیاهان بافت ناهمسان تقریباً غیرممکن است، بنابراین افزایش رویشی، تنها راه‌حل افزایش هم‌گروهی این گیاهان است. گیاه زبان مادر زن یا سانسوریا از جمله گیاهان برگ‌ساره‌ای بسیار مقاوم به شرایط درون‌خانه است که دارای ارقام فراوانی است. افزایش از طریق ریزوم و جدا نمودن پاکیه از جمله روش‌های افزایش هم‌گروهی این گیاه بافت ناهمسان است که دارای راندمان پایینی است و در طول سال تعداد بسیار کمی گیاه ابلق قابل تولید خواهد بود. افزایش رویشی این گیاه زینتی به کمک قلمه‌برگ مورد بحث و اختلاف نظر بسیاری بوده است. بسیاری از پرورش‌دهندگان و تولیدکنندگان اعتقاد دارند که استفاده از قلمه‌های دارای برش V در انتهای وارونه پاهنگ که منجر به حذف قسمت‌های سبز در ارقام ابلق می‌گردد، شانس تولید گیاهان بافت ناهمسان را افزایش می‌دهد. این در حالی است که تاکنون هیچ گزارش علمی در این زمینه منتشر نشده است. بنابراین، برای روشن شدن این موضوع، دو نوع قلمه برگ ساده و دارای برش V وارونه در گیاهان ابلق سانسوریای پابلند و در آمیخته‌های خاکی مختلف در شرایط گلخانه مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج دو تکرار کامل آزمایش با بیش از ۲۰۰ قلمه برگ به‌کاررفته آشکارا بیانگر آن است که شانس تولید گیاهان بافت ناهمسان از قلمه برگ بسیار ناچیز خواهد بود و با اطمینان می‌توان گفت که

احتمال افزایش سانسوریای ابلق به وسیله قلمه برگ از گیاهان ابلق، کمتر از ۱ درصد است. در آزمایش دوم اثر سه آمیخته خاکی در رابطه با بستر بهینه برای افزایش سانسوریا مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بیانگر این است که استفاده از محیط دارای پرلایت درشت به اندازه پرلایت بافت متوسط کارایی ندارد. درحالی که بستر پرلایت متوسط و کوکوپیت و پرلایت اثر مشابهی نشان دادند. استفاده از آمیخته های خاکی متفاوت و اهمیت آن ها در افزایش گیاهان زینتی مختلف پیش تر مورد بررسی قرار گرفته است. در یک مطالعه، اثر آمیخته های خاکی پیت خزه، ضایعات نارگیل (کوکوپیت)، ضایعات نخل (پالم پیت) و باگاس نیشکر به صورت خالص و همچنین آمیخته با ۵۰ درصد پرلایت بر روی گیاه پتوس مورد بررسی قرار گرفت (Samiei et al., 2005). بیشترین تعداد و سطح برگ، وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه، تعداد پاگیاه و طول پیچ در بستر کشت کوکوپیت و کمترین آن در باگاس نیشکر مشاهده شد. اثر آمیخته خاکی پرلایت به تنهایی و یا پرلایت و شن کوآرتز بر بسیاری از عامل رشدی گیاه اسپاتی فیلوم به اثبات رسیده است (Kakoui & Salehi, 2011). همچنین تیمار ۱۰ گرم زئولیت در کیلوگرم آمیخته خاکی اثر مثبتی بر وزن تر ریشه و عمق ریشه دهی گل نرگس دارد (Nazari et al., 2014). نتایج آزمایش هایی که در دو آمیخته پرلایت و کوکوپیت و پرلایت تنها به کمک قلمه های ساده و V وارونه سانسوریا ابلق انجام شد، نشانگر این است که این دو محیط کشت تأثیر متفاوت و معنی داری بر تعداد گیاهان باززایی شده از دو نوع مختلف قلمه برگ ندارند. تنها تعداد ریشه تشکیل شده بر روی قلمه مادری در دو نوع قلمه در محیط دارای پرلایت و طول شاخساره و تعداد ریشه روی قلمه برگ در قلمه برگ V وارونه در محیط دارای کوکوپیت و پرلایت با قلمه ساده متفاوت بود. نتایج بررسی آمیخته خاکی نشان می دهد که تعداد ریشه های فرعی بر روی گیاهان باززایی شده از روی قلمه برگ در آمیخته خاکی دارای کوکوپیت و پرلایت نسبت به پرلایت تنها، بیشتر است. وجود تعداد بالاتر این ریشه های فرعی اثر مثبتی در استقرار این قلمه در محل نهایی رشد خواهد داشت. آزمایش های درون شیشه ای روی رقم پاکوتاه ابلق سانسوریا (رقم هاهانی طلایی) انجام شد. نتایج آزمایش های درون شیشه ای نیز در تولید گیاهان بافت ناهمسان موفقیت آمیز نبود. باوجود باززایی گیاهان زال از روی ریزنمونه های بافت ناهمسان، اما این باززایی حالت تصادفی داشته و قابل تکرار نبود. از طرفی گیاهان زال باززایی شده در زیر کشت ها، دارای رشد محدود بودند. غیر از این موارد بسیار محدود مشاهده شده، تمام گیاهان باززایی شده دارای برگ های سبز و غیر ابلق بودند. در ریزافزایی گونه سانسوریای سیلندری دو تنظیم کننده رشد 2,4-D و IBA منجر به تشکیل پینه و ساختارهای گره مانند شدند. استفاده از ۵ میکرومولار بنزیل آدنین و ۲ میکرومولار نفتالن استیک اسید منجر به تولید ۱۷ شاخساره در هر ریز نمونه گردید (Shahzad et al., 2009) این در حالی است که میانگین تعداد گیاه باززایی شده در هر ریز نمونه برگ در رقم سانسوریای ابلق پاکوتاه ۶/۷ بوده است. در مطالعه ای دیگر به وسیله Yusnita و همکاران (۲۰۱۱)، دو نژادگان پاکوتاه و پابلند سانسوریای سبز برای ریزافزایی در محیط کشت MS مورد بررسی قرار گرفت. در گزارشی دیگر پس از کشت اولیه ریزنمونه های برگ در محیط MS دارای IBA، تولید شاخساره با افزایش دمای روزانه محیط به ۳۷ درجه سلسیوس میسر شد (Kaur & Mudgal, 2021). بررسی میزان باززایی شاخساره میان سانسوریای پاکوتاه و پابلند هیچ تفاوت معنی داری را نشان نمی دهد (García-Hernández et al., 2022). در این مطالعه ریزنمونه های برگ به مدت یک هفته در محیط دارای 2,4-D نگهداری شدند و پس از یک دوره استراحت یک هفته ای به محیط دارای بنزیل آدنین با غلظت های مختلف منتقل شدند. به طور متوسط بین ۹ تا ۱۲ گیاهک به ترتیب در هر ریزنمونه سانسوریای بلند و کوتاه تولید شد و این



ریزشاخساره‌ها به کمک ۲ میلی گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید ریشه‌دار شدند. متأسفانه در گزارش‌های محدود در خصوص افزایش درون شیشه‌ای سانسوریا، گزارش قابل دسترسی در خصوص ارقام ابلق سانسوریا در دست نیست. اما افزایش هم‌گروهی بنفشه آفریقایی دارای بافت ناهمسان (رقم 'Crimson Frost') به کمک باززایی شاخساره نابجا از برگ، منجر به ۶۷ درصد تغییرات در رنگ گل و ۱۹ درصد تغییرات در شکل برگ گیاهان باززایی شده در کشت بافت گردید (Pack & Hahn, 2019). این در حالی است که افزایش درون شیشه‌ای *Haworthia retusa* × *cooperi* 'Variegata' با استفاده از تولید شاخساره نابجا منجر به باززایی گیاهان بافت ناهمسان شد (Yan et al., 2017). این نتایج بیانگر این است که دامنه وسیعی از عوامل که در حفظ هم‌گروهی در شرایط درون شیشه‌ای تأثیرگذار است به‌خوبی شناخته نشده است (Donnelly & Ortiz-Medina, 2005). در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که منشأ عمده گیاهان باززایی شده از قسمت داخلی‌تر اپیدرم قلمه برگ ابلق باشد و این موضوع می‌تواند دلیلی بر تولید گیاهان با برگ سبز از قسمت‌های ابلق برگ در نظر گرفته شود. برای حفظ ویژگی هم‌گروهی در گونه‌های بافت ناهمسانی، انتخاب دقیق روش افزایش، فهم و ساخت تغییراتی که به گیاهان باززایی شده به ارث می‌رسد به‌ویژه نوع بافت ناهمسانی در ریز نمونه‌ها و غربالگری دقیق نمونه‌های باززایی شده برای حفظ ویژگی شبیه به اصل بودن در افزایش از طریق باززایی جوانه نابجا مؤثر خواهد بود (Donnelly & Ortiz-Medina, 2005). به‌هرحال مطالعات جامع‌تر به کمک تکنیک لایه نازک سلولی در انگیزش گونه‌های ابلق سانسوریا ضروری است.

منابع

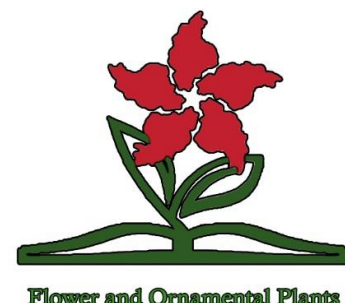
- Blazich, F.A., Novitzky, R.T. (1984). *In vitro* propagation of *Sansevieria trifasciata*. *HortScience*, 19(1), 122-123.
- Donnelly, D.J., Ortiz-Medina, E. (2005). Micropropagation and genetic risk: securing clonal fidelity. *Proceedings of The International Workshop On True-To-Typeness of Date Palm Tissue Culture-Derived Plants Morocco*.
- Frank, M.H., Chitwood, D.H. (2016). Plant chimeras: The good, the bad, and the 'Bizzaria'. *Developmental Biology*, 419, 41-53.
- Frello, S. Venerus E., Serek, M. (2002). Regeneration of various species of Crassulaceae, with special reference to Kalanchoe. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 77, 204-208.
- García-Hernández, E., Loera-Quezada, M.M., Morán-Velázquez, D.C., López, M.G., Chable-Vega, M.A., Santillán-Fernández, A., Zavaleta-Mancera, H.A., Tang, J.Z., Azadi, P., Ibarra-Laclette, E., Alatorre-Cobos, F. (2022). Indirect organogenesis for high frequency shoot regeneration of two cultivars of *Sansevieria trifasciata* Prain differing in fiber production. *Scientific Report*, 12, 8507.
- Henley, R.W., Chase, A.R., Osborne, L.S. *Sansevieria* Production Guide. CFREC-A Foliage Plant Note RH-91-30. University of Florida, USA.



- Ioannou, M., Ioannou, N. (1992). Micropropagation of *Kalanchoe Blossfeldiana* Poelln., from leaf-blade segments. Miscellaneous Reports Agricultural Research Institute, Ministry of Agriculture and Natural Resources Nicosia, 53, 4.
- Kakoui, F., Salehi, H. (2011). The effect of different pot mixes on growth and development of *Spathiphyllum wallisii*. 7th Congress of Iranian Horticultural Science, Esfahan, Iran.
- Kaur, J., Mudgal, G. (2021). An efficient and quick protocol for *in vitro* multiplication of snake plant, *Sansevieria trifasciata* var. *Laurentii*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 147, 405–411. <https://doi.org/10.1007/s11240-021-02132-0>.
- Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologiae Plantarum*, 15, 473–497.
- Nazari, F., Farahmand, H., Ghasemi Ghehsareh, M. (2014). The effects of different amounts of natural zeolite on vegetative and reproductive characteristics of *Narcissus tazetta* L. cv. Shahla. *Journal of Plant Production*, 37, 39-48.
- Paek, K.Y., Hahn, E.J. (1999). Variations in African violet 'Crimson Frost' micropropagated by homogenized leaf tissue culture. *HortTechnology*, 9. <https://doi.org/10.21273/HORTTECH.9.4.625>.
- Samiei, L., Khalighi A, Kafi M and Samavat S. (2005). Peat moss substituting with some organic wastes in pothos (*Epipremnum aureum* 'Golden pothos') growing media. *Journal of Horticulture Technology and Science*, 6(2), 79 - 88.
- Sarmast, M.K., Salehi, M., Salehi, H. (2009). The potential of different parts of *Sansevieria trifasciata* L. leaf for meristemoids production. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(3), 2506-2509.
- Shahzadm, A., Ahmasd, N., Rather, M.A., Husain, M.K., Anis, M. (2009). Improved shoot regeneration system through leaf derived callus and nodule culture of *Sansevieria cylindrical*. *Biologia Plantarum*, 53, 745-749.
- Torres, K.C. (1989). *In Vitro* Propagation of Snake Plant (*Sansevieria*). In: Tissue Culture Techniques for Horticultural Crops. Van Nostrand Reinhold.
- Veltcheva, M.R., Svetleva, D.L. (2005). *In vitro* regeneration of *Phaseolus vulgaris* L. via organogenesis from petiole ex-plants. *Journal of Central European Agriculture*, 6(1), 53-58.
- Wahyuningsih, T. (2006). Pengaruh beberapa konsentrasi benziladenin (BA) atau kinetin pada pembentukan tunas adventif *Sansevieria trifasciata* Lorentii *in vitro*. Skripsi Fakultas Pertanian, Universitas Lampung. pp.26.



- Wang, Y., Mou, H., Lü, Y., Li, H., Wang, Y., Chen, J. (2017). *In vitro* Regeneration and Industrial Micropropagation of *Haworthia retusa* × *cooperi* cv. 'Variegata'. *Chinese Bulletin of Botany*, 52, 331-336.
- Yusnita Pungkastiani, W., Hapsoro, D. (2011). In vitro organogenesis of two *Sansevieria* cultivars on different concentration of benzyladenine (BA). *Agrivita*, 147-153.



Appraisal of leaf cutting, soil mixture and leaf explants on production of *Sansevieria trifasciata* under *ex/in vitro* condition

Mostafa Khoshhal Sarmast*, Matin Dolati, Maryam Abbasabad, Esmaeil Seyfi, Mehdi Alizadeh

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

✉ mkhsarmast@gau.ac.ir

Received: 2022/06/27, Revised: 2022/08/21, Accepted: 2022/08/26

Abstract

Mass propagation along with preserving the true-to-type characteristics is the goal of ornamental plants clonal propagation. Among the ornamental species, chimeric plants have always been of interest because of their attractive appearance. The mother-in-law's tongue or *Sansevieria trifasciata*, due to its fleshy leaves and high tolerance to adverse environmental conditions, is very suitable as an indoor plant. Since the clonal propagation of aforesaid plants are through rhizomes and offset, therefore the aim of this study was to evaluate the type of leaf cuttings and soil mixture under greenhouse conditions and also aimed to see leaf explants response under *in vitro* condition. The results of experiments performed in the greenhouse show that the type of leaf cuttings is ineffective in inducing chimeric plants. Cocopeat-Perlite soil mixture led to the production of more roots in regenerated plants, however, compared to Perlite, it failed to improve shoot regeneration. There was no significant difference between plants regenerated from chimeric parts of reverse V shape cuttings compared to the simple leaf cuttings. *In vitro* studies using the 2,4-D and kinetin revealed that the explants which were incubated for 20 days in MS media supplemented with 0.35 mg/L 2,4-D and then kinetin resulted in a higher average number of shoots. Although the use of leaf explant was not effective in inducing true chimeric shoots, some plastidial mutations were seen, leading to the production of albino plants. *In vitro*-induced plants were acclimated with 100% efficiency in greenhouse conditions under mist system. Overall, the results of these *in/ex vitro* studies failed to induce chimeric plants likely due to the *de novo* meristemoid induction originating from inner layers of chimeric tissues.

Keywords: Chimeric tissue, Leaf cutting, Proliferation, *Sansevieria trifasciata*, 2,4-D.