بهینه‌سازی تکثیر درون شیشه‌ای *Paulownia tomentosa*

فرزانه داودآبادی فراهانی[1]، سید مهدی میری[2*] و امراله نبی‌گل[3]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران،
f.farahanie1991@gmail.com

۲*- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران،
smmiri@kiau.ac.ir

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، واحد ابهر، دانشگاه آزاد اسلامی، ابهر، ایران، nabigol@gmail.com

*نویسنده مسئول: سید مهدی میری

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

Optimization of *in vitro* propagation of *Paulownia tomentosa*

Farzaneh Davoudabadi Farahanie[1], Seied Mehdi Miri[2*] and Amrollah Nabigol[3]

1- M.Sc Student, Department of Horticulture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran,
f.farahanie1991@gmail.com

2*- Associate Professor, Department of Horticulture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran, smmiri@kiau.ac.ir

3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Abhar Branch, Islamic Azad University, Abhar, Iran,
nabigol@gmail.com

*Corresponding author: Seied Mehdi Miri

Received: January 2019 Accepted: June 2020

چکیده

درخت *Paulownia tomentosa* جزو گونه‌های سریع‌الرشد، مقاوم به خشکی و متحمل به خاک‌های فقیر است. به منظور مطالعه تاثیر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر ریزازدیادی *P. tomentosa*، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. جهت پرآوری از محیط‌های کشت MS و DKW حاوی ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA) و برای ریشه‌زایی نیز از محیط‌های کشت فوق (کاهش عناصر پرمصرف به نصف) حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) استفاده شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس، تفاوت معنی‌داری بین دو محیط کشت MS و DKW برای صفات پرآوری و ریشه‌زایی مشاهده نگردید. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیشترین تعداد (۲/۱–۱/۸ عدد) و وزن تر شاخساره (۱/۷–۱/۵ گرم) در محیط‌های کشت حاوی ۲ یا ۳ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد. بالاترین درصد ریشه‌زایی (۱۰۰٪)، تعداد ریشه (۸/۰ عدد)، طول ریشه (٤/٥ سانتی‌متر) و وزن تر گیاهچه (۲/۹ گرم) در محیط‌های کشت حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر IBA حاصل گردید. نتایج سازگاری نشان داد که ۹۰ درصد گیاهچه‌ها در بستر پیت ماس، کوکوپیت و پرلایت به نسبت ۱:۲:۲ زنده ماندند.

کلمات کلیدی: ایندول بوتیریک اسید، بنزیل آدنین، پائولونیا، ریزازدیادی، محیط کشت

Abstract

Paulownia tomentosa is very adaptable, widely distributed and extremely fast growing deciduous. The application of micropropagation techniques in agro-forestry was essential because it offers a rapid way of producing genetically uniform cloned stock with high quality. In order to study the effect of basal culture medium and growth regulators on micropropagation of *P. tomentosa*, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design with four replications. The seeds were surface disinfected in a solution of 1.5% NaOCl for 10 min and culture on MS medium containing 50 mg/l GA_3. For shoot multiplication, isolated 1 cm long epicotyls were put on MS and DKW media supplemented with0.5, 1, 2 and 3 mg/l benzyl adenine (BA), 0.1 mg/l NAA, 30 g/l sucrose, 7 g/l agar and pH = 5.6-5.8 before autoclaving. The subculture period was 4 weeks in growth chambers with permanent temperature 25±1°C, white fluorescent light with intensity 3000 lx and 16:8 h photoperiod. Basal modified MS and DKW media (reduction of all macro elements by half) enriched with 0.5, 1 and 2 mg/l indole butyric acid (IBA), 20 g/l sucrose and 7 g/l agar were studied for rooting efficiency. According to the results of analysis of variance, no significant differences were observed between MS and DKW media for multiplication and rooting traits. Due to the compatibility of this species to environmental conditions, it seems that the same behavior was observed in tissue culture and showed the same reaction in both MS and DKW media for all traits. Mean comparison results showed that the highest shoot number (1.8-2.1 shoot per explant) and shoot fresh weight (1.5-1.7 g) were obtained in media containing 2 or 3 mg/l BA. The highest rooting percentage (100%), root number (0.8 root per explant), mean root length (4.5 cm) and plantlet fresh weight (2.9 g) were obtained in media enriched with 2 mg/l IBA. Rooted plantlets were rinsed with tap water to remove the medium from the roots and transferred to the substrate of peat moss : cocopeat: perlite (2 : 2 : 1), treated with Mancozeb fungicide (0.2%) and cultivated for 30-40 days in growth chambers with gradual decrease of the atmospheric humidity. There is a significant positive correlation between root number as well as plantlet fresh and dry weight with *ex vitro* survival. Acclimatization results showed that 90% of plantlets successfully survived after four months. The method described here can be successfully employed for large scale *in vitro* propagation of *P. tomentosa* plants.

Keywords: Benzyl adenine, Culture medium, Indole butyric acid, Micropropagation, *Paulownia*.

مقدمه و کلیات

جنس *Paulownia* از خانواده Scrophulariaceae، بومی شرق آسیا و اروپا و آمریکای شمالی و جنوبی است و *P. fortunei*، *P. kawakamii*، *P. taiwaniana* و *P. tomentosa* معروفترین گونه‌های آن هستند. *P. tomentosa* یک درخت جذاب و برگدار، سریع الرشد به ارتفاع ۱۲-۱۵ متر است. رنگ گل از سفید تا آبی کمرنگ و بنفش متغیر بوده و در فصل بهار پیش از ظاهر شدن برگها دیده می‌شود. ارزش تجاری *Paulownia* به دلیل سریع‌الرشد بودن، مقاومت بالا به خشکی و تحمل خاک‌های فقیر به طور روز افزون در حال افزایش است. چوب این جنس برای ویژگی‌های کاربردی و زینتی آن اهمیت دارد. چوب آن سبک وزن بوده (۱۶ پوند در هر فوت مکعب) و در ساخت مبلمان، اسباب بازی‌ها، ابزارهای موسیقی، تخته سه لا و جعبه مفید می باشد (Burger, 1989). این گونه درختی به عنوان یک گونه با نیاز آبی کم مطرح بوده و برای فضای سبز و زیباسازی استفاده می شود. همچنین درخت *Paulownia* می‌تواند در دمای بالای ۵۰ درجه سانتی‌گراد نیز رشد کند و از فتوسنتز بالایی برخوردار است که این امر موجب می‌شود علاوه بر تصفیه هوا و جذب بالای دی اکسید کربن تاثیر بسیار فوق‌العاده‌ای در جذب آلاینده‌ها و گرد و غبار هوا داشته باشد. به همین خاطر بناست در خوزستان به منظور گسترش فضای سبز و جلوگیری از ریزگردها در حجم انبوه کشت شود (مدیر رحمتی و همکاران، ۱۳۹٤). گونه‌های *Paulownia* می‌توانند به صورت جنسی توسط بذر یا به طور غیرجنسی توسط قلمه-های ساقه و ریشه یا کشت درون شیشه ای تکثیر شوند (Burger, 1989). تکثیر پائولونیا با استفاده از روش قلمه و کشت بذر وقت گیر و ریسک پذیر است. چرا که ممکن است بذرها سبز نشوند و یا در روش قلمه نهایتاً صد درخت را با قلمه زدن تمثیر کرد، در حالی که در روش کشت بافت می‌توان هزاران درخت *Paulownia* را تولید کرد (Rahman *et al.*, 2013). محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد از عوامل مهمی هستند که بر موفقیت کشت درون شیشه‌ای تأثیر گذارند (فلاح پور و همکاران، ۱۳۹۸؛ Hasanloo *et al.*, 2014). Magar و همکاران (۲۰۱٦) تکثیر درون شیشه‌ای *P. tomentosa* با استفاده از ریزنمونه گره و با دستکاری میزان اکسین و سایتوکنین در محیط کشت را انجام دادند. پرآوری شاخه در محیط کشت پایه MS حاوی مقادیر مختلف BAP، NAA، KN و IAA مورد آزمون قرار داده شد. آنها دریافتند که ترکیب BAP و NAA منجر به رشد بهینه می‌شود. Pozoga و همکاران (۲۰۱۹) تاثیر غلظت‌های مختلف BAP و شرایط نوری بر تکثیر تجاری درون شیشه‌ای هیبرید *P. fortunei* × *tomentosa* را ارزیابی کردند. بهترین نتایج از محیط کشت پایه ½MS حاوی ۰/۵ میلی گرم بر لیتر BAP به دست آمد. در شرایط نوری استاندارد (۳۱۰۰ لوکس)، ۲ شاخساره دارای میانگین ۳/۵ گره قابل کشت در هر کدام و با کاهش ۷۰٪ نور ۲ شاخساره جدید دارای ٦ گره قابل کشت در هر کدام رشد کرد. ریشه زایی با کارایی ۹۵٪ زمانی که از محیط کشت پایه ½MS حاوی ۲٪ ساکارز استفاده شد به دست آمد. آنها محاسبه کردند که هزینه تولید

یک نهال کشت بافتی که در شرایط استاندارد نور رشد می‌کند ۰/۰۸٤ دلار و در هنگام رشد در ۷۰٪ کاهش نور ۰/۰۸۲ دلار است که در آن تنها هزینه‌های متغیر در نظر گرفته شده است. با توجه به مزایای فراوان گیاه *Paulownia* که نیاز به تولید انبوه این گیاه را لازم می‌کند و وجود مشکل جوانه زنی بذر و تکثیر انبوه این گیاه توسط قلمه، این امر را موجب می‌شود تا از تکنیک کشت بافت بهره گرفته تا به نتیجه مطلوب برای تکثیر این گیاه برسیم. پژوهش حاضر جهت تعیین پروتکل مناسب برای تکثیر گیاه *P. tomentosa* از طریق کشت درون شیشه ای انجام می‌پذیرد.

فرآیند پژوهش

ریزنمونه‌های مورد استفاده در این آزمایش از کشت بذور *P. tomentosa* به شرح زیر به دست آمد. ابتدا بذور با اتانول ۷۰٪ به مدت ۵ دقیقه تیمار شده و بعد از آن در وایتکس ۳۰٪ به مدت ۱۰ دقیقه غوطه‌ور و در نهایت ۳ بار با اب مقطر استریل شست و شو شد. سپس در محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و ۵۰ میلی گرم در لیتر GA_3 کشت شده و در اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول روز ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی زیر نور سفید خنک فلورسنت با شدت نور ۳۰۰۰ لوکس بمدت ٤ تا ٦ هفته قرار گرفت تا جوانه‌زنی بذرها صورت گیرد. پس از جوانه زنی بذر، اپی‌کوتیل گیاهچه‌ها جدا شده و جهت پرآوری در محیط کشت‌های MS (Murashige and Skoog, 1962) و DKW (Driver and Kuniyuki, 1984) حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و BA با غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر همراه با ۰/۱ میلی گرم بر لیتر NAA کشت گردیده و در شرایط رشدی مشابه قبل نگهداری شدند. بعد یک ماه درصد پرآوری، تعداد و میانگین طول شاخساره، تعداد گره و وزن تر و خشک شاخساره‌ها اندازه‌گیری گردید. محاسبه وزن خشک از طریق قرار دادن شاخساره‌ها در آون با دمای ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۲٤ ساعت و توزین آنها با ترازوی دیجیتال اجرا شد. در مرحله ریشه زایی نیز شاخساره‌هایی بطول ۲-۱ سانتیمتر به دو محیط کشت مذکور که غلظت عناصر پرمصرف به نصف تقلیل داده شده و حاوی ۲۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و IBA با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر می‌باشند، منتقل شده و درصد ریشه زایی و کالوس زایی، تعداد و میانگین طول ریشه‌ها و وزن تر و خشک گیاهچه‌ها پس از یک ماه یادداشت برداری گردید. گیاهچه‌های ریشه دار شده سپس از محیط کشت خارج شده و ریشه‌ها کاملا شست و شو داده شده تا بقایای محیط کشت و آگار که ممکن است منشا آلودگی باشند حذف شود و داخل ظروف یکبار مصرف درب دار که محتوی مخلوط حجمی ۱:۲:۲ از پیت ماس، کوکوپیت و پرلایت بودند و با محلول ۲ در هزار قارچکش مانکوزب تیمار شده بودند منتقل شدند. گیاهان در اتاقک رشد با دمای ۲۳ درجه سانتی گراد با طول روز ۱٦ ساعت روشنایی زیر لامپ نور سفید خنک فلورسنت و لامپ‌های زرد گازی قرار گرفته و در ۱۵ روز اول، درب ظروف در طول روز بسته بود و هر روز روی گیاه آب اسپری می‌شد. بعد از گذشت ۱۵

روز از انتقال، هوادهی روزانه جهت سازگار شدن گیاهچه‌ها با هوای آزاد به تدریج شروع شد و پس از گذشت ۲۰ روز درب ظروف در تمام ساعات شبانه روز باز بود. ٤ ماه بعد از انتقال اولیه گیاهان به خاک، درصد زنده مانی یادداشت برداری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار ۲ ریزنمونه) به اجرا در آمد. تجزیه آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 21 و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و محاسبه همبستگی بین صفات به روش پیرسون انجام شد.

نتایج و بحث

پرآوری: پس از کشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت-های مورد آزمایش، شاخساره‌زایی صورت گرفت. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر محیط کشت و برهمکنش محیط کشت و BA در هیچکدام از صفات معنی‌دار نبود. با توجه به سازگار و کم توقع بودن این گیاه، به نظر می‌رسد این امر در شرایط کشت درون شیشه‌ای هم صادق بوده و واکنش یکسانی در هر دو محیط کشت MS و DKW برای همه صفات نشان داده است که با یافته‌های موسوی و همکاران (۱۳۹٦) روی عناب مشابهت دارد. با اینحال واکنش گونه‌های *Paulownia* به محیط کشت متفاوت بوده، بطوریکه Chunchukov و Yancheva (۲۰۱٤) توانایی ریزازدیادی ژنوتیپ‌های مختلف *Paulownia* شامل *P. elongata*، *P. tomentosa* × *P. fortunei* و (*P. elongata* × *P. tomentosa*) × *P. elongat* در محیط کشت‌های پایه MS، DKW، QL، McC و N6 حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر IBA را مورد مطالعه قرار داده و دریافتند بیشترین تعداد شاخساره با محیط کشت MS بدست می‌آید.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر محیط کشت و BA بر پرآوری شاخساره *P. tomentosa*

Table 1. Results of analysis of variance of the effect of medium and BA on shoot proliferation of *P. tomentosa*

	درجه آزادی	میانگین مربعات					
منابع تغییرات		درصد پرآوری	تعداد شاخساره	طول شاخساره	تعداد گره	وزن تر	وزن خشک
محیط کشت	1	488.28^{ns}	0.00^{ns}	0.06^{ns}	0.84^{ns}	0.04^{ns}	0.00^{ns}
BA	3	1946.61^{ns}	6.44^{**}	0.29^{ns}	2.46^{ns}	1.94^{**}	0.00^{ns}
محیط کشت×BA	3	1009.11^{ns}	0.92^{ns}	0.69^{ns}	0.91^{ns}	0.57^{ns}	0.00^{ns}
خطای آزمایش	24	735.67	0.34	0.42	1.00	0.27	0.00

ns و ** بترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪

اثر BA فقط بر تعداد و وزن تر شاخساره در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار شد. میانگین طول شاخساره، تعداد گره و وزن خشک شاخساره‌ها به ترتیب در محدوده ۲/۸-۲/٤ سانتی متر، ٤/٥-٤/۰ عدد در هر شاخساره و ۰/۸-۰/۱ گرم بود. بیشترین درصد پرآوری به میزان ٦۲/۵٪ در محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم در لیتر BA بدست آمد و غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA کمترین میزان پرآوری را نشان داد (جدول ۲). با افزایش غلظت BA تعداد و وزن تر شاخساره افزایش یافته بطوریکه در غلظت ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر BA به بیشترین میزان رسید (شکل ۱) که با نتایج Rahman و همکاران (۲۰۱۳) که اعلام کردند بهترین غلظت هورمون برای پرآوری شاخساره *P. tomentosa* محیط کشت MS حاوی ۲/۵ میلی گرم بر لیتر BAP + ۰/۵ میلی گرم بر

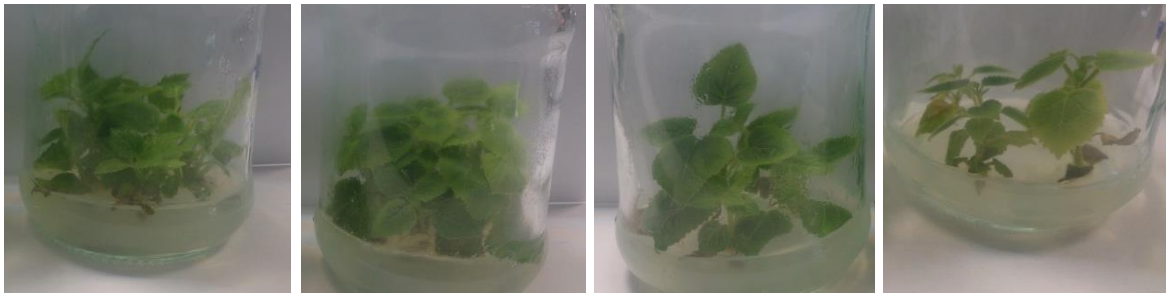
لیتر NAA است مطابقت دارد. Ozaslan و همکاران (۲۰۱٤) نیز بیشترین تعداد باززایی شاخساره از مریستم انتهایی *P. tomentosa* را روی محیط کشت MS حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP + ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA بدست آوردند. نقش و اثر تنظیم کننده رشد BA در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید است (Miri and Roughani, 2018).

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر BAبر پرآوری شاخساره P. tomentosa

Table 2. Mean comparison of the effect of BA on shoot proliferation of P. tomentosa

BA (mg/l)	درصد پرآوری	تعداد شاخساره	وزن تر(g)
0.5	25.0 ^{b}	0.3 ^{b}	0.6^{b}
1	40.6 ^{ab}	0.6 ^{b}	1.3^{b}
2	62.5 ^{a}	2.1 ^{a}	1.5^{a}
3	37.5 ^{ab}	1.8 ^{a}	1.7^{a}

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.



شکل ۱- پرآوری شاخساره در غلظت‌های مختلف BA (به ترتیب از راست به چپ ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم در لیتر)

Figure 1. Shoot proliferation at different concentrations of BA (0.5, 1, 2 and 3 mg/l, respectively, from right to left)

جدول ۳ همبستگی صفات مورد آزمایش را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، تعداد شاخساره و درصد شاخساره زایی در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر همبستگی مثبت داشتند. تعداد گره با تعداد و طول شاخساره همبستگی مثبت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ نشان داد. وزن تر نیز در سطح احتمال ۵٪ با تعداد شاخساره و تعداد گره و در سطح احتمال ۱٪ با وزن خشک همبستگی مثبت معنی دار داشت. بین تعداد و طول شاخساره رابطه معنی داری مشاهده نشد که مشابه نتایج Erfani و همکاران (۲۰۱۷) روی پایه Garnem است، در حالیکه میری و همکاران (۱۳۸۲) نتیجه گرفتند افزایش تعداد شاخساره پایه‌های M.9 و M.26 سیب موجب کاهش طول آنها می‌شود. از طرفی Fallahpour و همکاران (۲۰۱۵) همبستگی مثبت معنی‌داری بین تعداد و طول شاخساره در پایه Gisela 5 گزارش کردند.

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین صفات پرآوری شاخساره

Table 3. Correlation coefficients among shoot proliferation traits

صفت	درصد پرآوری	تعداد شاخساره	طول شاخساره	تعداد گره	وزن تر
تعداد شاخساره	0.732**				
طول شاخساره	0.182	0.218			
تعداد گره	0.326	0.414*	0.368*		
وزن تر	0.305	0.426*	0.015	0.390*	
وزن خشک	0.284	0.309	0.076	0.174	0.488**

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

ریشه‌زایی و سازگاری: همانطور که در جدول ٤ نشان داده شده اثر محیط کشت و محیط کشت×IBA در هیچکدام از صفات معنی‌دار نبود، اما اثر IBA بر تمام صفات مورد آزمایش در سطح احتمال ۱٪ معنی دار شد.

همانگونه که Bahri و Bettaieb (۲۰۱۳) اعلام کردند حضور اکسین خارجی برای ریشه‌زایی شاخساره‌های *P. tomentosa* ضروری است.

جدول ٤- نتایج تجزیه واریانس اثر محیط کشت و IBA بر ریشه زایی و سازگاری P. tomentosa

Table 4. Results of analysis of variance of the effect of medium and IBA on rooting and acclimatization of P. tomentosa

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)						
		درصد کالوس‌زایی	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن تر	وزن خشک	درصد زنده مانی (سازگاری)
محیط کشت	1	651.04^{ns}	416.66^{ns}	6.20^{ns}	0.08^{ns}	0.02^{ns}	0.00^{ns}	0.00^{ns}
IBA	2	12526.04^{**}	20416.66^{**}	128.67^{**}	42.42^{**}	10.60^{**}	0.02^{**}	16466.66^{**}
محیط کشت×IBA	2	651.042^{ns}	416.66^{ns}	5.47^{ns}	0.80^{ns}	0.60^{ns}	0.00^{ns}	0.00^{ns}
خطای آزمایش	18	1171.87	972.22	12.33	1.54	1.00	0.00	544.44

ns و ** بترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۱٪

با افزایش غلظت IBA از ۰/۵ به ۲ میلی گرم در لیتر، شاخص‌های ریشه زایی افزایش یافت (شکل ۲)، به طوری که بیشترین میزان کالوس زایی (۹۳/۷ درصد)، درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد)، تعداد ریشه (۸ عدد)، میانگین طول ریشه (٤/۵ سانتی متر) و وزن تر گیاهچه (۲/۹ گرم) مربوط به غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA و بعد از آن غلظت ۱ میلی گرم در لیتر بود. بیشترین میزان وزن خشک گیاهچه با غلظت ۲ (۰/۱۵ گرم) و ۱ (۰/۱۳ گرم) میلی گرم در لیتر IBA بدست آمد. در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA هیچ ریشه زایی مشاهده نشد. Bahri و Bettaieb(۲۰۱۳) نیز گزارش کردند حدود ۸۰-۷۰ درصد شاخساره‌های *P. tomentosa* در محیط کشت پایه حاوی ۱-۲ میلی گرم در لیتر IBA و ٤ هفته بعد از کشت ریشه دار شدند. این نتایج با یافته‌های Roy (۲۰۱۵) که گزارش کرد در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA حدود ۸-٦ ریشه و با میانگین طول ۰/۳±٤ سانتی متر از شاخساره‌های *P. tomentosa* به دست می‌آید مطابقت دارد اما از طرفی دیگر، Rahman و همکاران (۲۰۱۳) دریافتند اضافه کردن ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA به محیط کشت MS½موجب بیشترین ریشه زایی شاخساره‌های *P. tomentosa* (۹۸٪) می‌گردد. اکسین‌ها معمولا باعث رشد طولی سلول، تشکیل ریشه نابجا و تشکیل کالوس می‌شوند و IBA در غلظت‌های مختلف به عنوان اکسین معمول در ریشه زایی درون شیشه‌ای و برون شیشه‌ای اغلب گونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (میری، ۱۳۹٦؛ فلاح پور و همکاران، ۱۳۹۸).

شکل ۲- ریشه زایی شاخساره در غلظت‌های مختلف IBA (به ترتیب از چپ به راست ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر)

Figure 2- Rooting at different IBA concentrations (0.5, 1 and 2 mg/l, respectively, from right to left)

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر IBA بر ریشه زایی و سازگاری P. tomentosa

Table 5. Mean comparison of the effect of IBA on rooting and acclimatization of P. tomentosa

IBA (mg/l)	درصد کالوس زایی	درصد ریشه زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	وزن تر (g)	وزن خشک (g)	درصد زنده مانی (سازگاری)
0.5	15.6 [b]	0.0 [c]	0.0 [c]	0.0 [c]	0.6 [c]	0.04 [b]	0.0 [c]
1	43.7 [b]	37.5 [b]	3.6 [b]	1.4 [b]	1.7 [b]	0.13 [a]	35.0 [b]
2	93.7 [a]	100.0 [a]	8.0 [a]	4.5 [a]	2.9 [a]	0.15 [a]	90.0 [a]

اعداد دارای حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی داری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

همانطور که در جدول ٤ قابل مشاهده است محیط کشت به تنهایی و همچنین بر همکنش میان محیط کشت×IBA بر درصد زنده مانی و سازگاری گیاهچه‌ها اثر معنی داری را نشان ندادند. اما IBA در سطح احتمال ۱٪ اثر معنی داری را در سازگاری گیاهچه با شرایط محیطی داشت. جدول ۵ نشان می‌دهد که بیشترین میزان زنده مانی و سازگاری با شرایط محیطی مربوط به گیاهچه‌های ریشه دار شده در محیط کشت حاوی ۲ میلی گرم در لیتر IBA و به میزان ۹۰ درصد می‌باشد (شکل ۳) و شاخساره‌های ریشه دار شده با غلظت ۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IBA با میزان ۳۵ و صفر درصد در مراتب بعدی قرار می‌گیرند. مطابق نتایج همبستگی (جدول ٦)، کلیه صفات با یکدیگر همبستگی مثبت معنی داری در سطح احتمال ۱٪ دارند. به این معنی که گیاهچه‌هایی که شاخص‌های ریشه زایی بهتری داشتند، بالطبع رشد و وزن بیشتری داشته و در نهایت بهتر توانستند با شرایط محیط برون شیشه ای سازگار شوند.

شکل ۳- سازگاری گیاهچه بعد از ٤ ماه

Figure 3- Plantlet acclimatization after 4 months

جدول ٦- ضرایب همبستگی بین صفات ریشه زایی و زنده مانی

Table 6. Correlation coefficients among rooting and survival traits

صفت	درصد کالوس زایی	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن تر	وزن خشک
درصد ریشه‌زایی	0.866**					
تعداد ریشه	0.820**	0.932**				
طول ریشه	0.868**	0.979**	0.901**			
وزن تر	0.841**	0.859**	0.929**	0.869**		
وزن خشک	0.706**	0.637**	0.675**	0.641**	0.834**	
زنده مانی	0.788**	0.935**	0.854**	0.931**	0.804**	0.660**

**: معنی دار در سطح احتمال ۱٪

نتیجه‌گیری کلی

تحقیق حاضر یک پروتکل بهینه شده برای ریزازدیادی *Paulownia tomentosa* ارائه می‌دهد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از محیط‌های کشت MS و DKW اثر یکسانی به عنوان محیط کشت پایه بر پرآوری و ریشه‌زایی شاخساره‌ها دارد. کاربرد BA برای رسیدن به بالاترین پرآوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و در سطوح بالا (۲-۳ میلی گرم در لیتر) موجب افزایش پرآوری می‌گردد. هورمون IBA نیز در ریشه‌زایی نقش بسزایی داشته و غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین پاسخ را دارد.

منابع

۱) فلاح پور، م. میری، س م. بوذری، ن. ۱۳۹۸. اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی پایه نیمه پاکوتاه کننده گیلاس CAB-6P. نشریه علوم باغبانی ایران. ۵۰(۱): ۱۹۶-۱۸۷.

۲) مدیررحمتی، ع. قاسمی، ر ا. کلاگری، م. باقری، ر. ۱۳۹۳. بررسی ارقام مناسب صنوبر و پائولونیا در ارتفاعات مناطق کوهستانی شمال کشور. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران. ۲۲(٤): ۷۳٦-۷٤۸.

۳) موسوی، س س. میری، س م. مرادی، پ. ۱۳۹٦. بهینه‌سازی ریزازدیادی عناب (*Ziziphus jujuba*) رقم Tian-yuzao. زراعت و اصلاح نباتات. ۱۳(٤): ۱۱-۱.

۴) میری، س م. ۱۳۹٦. تاثیر اکسین‌های IAA، IBA و NAA بر ریشه‌زایی درون شیشه‌ای پایه‌های M.9 و M.26 سیب. فصلنامه زیست‌شناسی سلولی و مولکولی گیاهی. ۱۲(٤): ۲۳-۱۵.

۵) میری، س م. واعظ لیواری، ب. خلیقی، ا. قائم مقامی، س ع. ۱۳۸۲. کاهش اکسیداسیون فنلی و پرآوری درون شیشه‌ای شاخساره همگروه‌های سیب 'M.26' و 'M.9'. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ٤(۳ و ٤): ۱٥٤-۱٤٥.

6) Bahri, N.B. Bettaieb, T. 2013. *In vitro* propagation of a forest tree *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud. A valuable medicinal tree species, Albanian Journal of Medical and Health Sciences. 12(1): 37-42

7) Burger, W. 1989. Empress tree (*Paulownia tomentosa* Steud.). Biotechnology in Agriculture and Forestry. 5: 359-360.

8) Chunchukov, A. Yancheva, S. 2014. Micropropagation of *Paulownia* species and hybrids. First National Conference of Biotechnology, Sofia, Bulgaria.

9) Driver J.A. Kuniyuki, A.H. 1984. *In vitro* propagation of Paradox walnut *Juglans hindsii* × *Juglans regia* rootstock. HortScience 19: 507-509.

10) Erfani, M. Miri, S.M. Imani, A. 2017. *In vitro* shoot proliferation and rooting of Garnem rootstock as influenced by basal media, plant growth regulators and carbon sources. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology. 18(3&4): 101-109.

11) Fallahpour, M. Miri, S M. Bouzari, N. 2015. *In vitro* propagation of 'Gisela 5' rootstock as affected by mineral composition of media and plant growth regulators. Journal of Horticultural Research. 23(1): 57-64.

12) Hasanloo, T. Jafarkhani Kermani, M. Malmir Chegini, M. Sepehrifar, R. Mohajeri Naraghi, S. Miri, S.M. 2014. Optimization of *in vitro* propagation of qare-Qat (*Vaccinium arctostaphylus*). Journal of Medicinal Plants and By-products. 2: 199-205

13) Magar, L.B. Shrestha, N. Khadka, S, Joshi, J.R. Acharya, J. Gyanwali, G.C. Marasini, B.P. Rajbahak, S. Parajuli, N. 2016, Challenges and opportunity of *in vitro* propagation of *Paulownia tomentosa* Steud for commercial production in Nepal. International Journal of Applied Sciences and Biotechnology. 4(2): 155-160.

14) Miri, S.M. Roughani, A. 2018. Factors affecting tissue culture success in ornamental crops, I. medium composition. 2nd International and 3rd National Congress on Flower and Ornamental Plants, Mahallat, Iran.

15) Murashige T. Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cul-ture. Physiologia Plantarum. 15(3): 473-497.
16) Ozaslan, M. Can, C. Aytekin, T. 2005. Effect of explant source on *in vitro* propagation of *Paulownia tomentosa* Steud., Biotechnology & Biotechnological Equipment. 20: 20-26.
17) Pozoga, M. Olewnicki, D. Jablonska, L. 2019. *In vitro* propagation protocols and variable cost comparison in commercial production for *Paulownia tomentosa* × *Paulownia fortunei* hybrid as a renewable energy source. Applied Sciences. 9: 1-9.
18) Rahman, A. Rahman, F. Rahmatullah, M. 2013. *In vitro* regeneration of *Paulownia tomentosa* Steud. plants through the induction of adventitious shoots in explants derived from selected mature trees, by studying the effect of different plant growth regulators. American Eurasian Journal of Sustainable Agriculture. 7: 259-268.
19) Roy, P.K. 2015. *In vitro* plant regeneration of *Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud. from shoot tip and leaf segment, Bangladesh Journal of Bototany. 44(3): 459-463.