در
منابع طبیعی شماره ۷۵، تابستان ۱۳۸۶
پژوهش و سازندگی

مطالعه ریزازدیادی در گیاه دارویی سیاه گینه (*Denderostellera lessertii* VanTiegh)

• **عباس قمری زارع**
عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور
• **مه‌لقا قربانلی**
عضو هیأت علمی‌دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
• **شیدا حسینی**
دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران
• **شکوفه شهرزاد**
محقق مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۵

Email: ghamari-zare@rifr-ac.ir

چکیده

سیاه گینه حاوی عصاره سمی در برگ‌ها است که ترکیب خالص آن، تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد و از پیشرفت تصاعدی آنها جلوگیری می‌کند. نظر به اهمیت این گونه، مشکلات موجود در جوانه‌زنی بذور و ضروت ایجاد مزرعه یکنواخت، امکان ریزازدیادی آن بررسی شد. به‌منظور کشت بافت، پس از خیساندن بذرها در زیر آب جاری به مدت ۴۲ ساعت و سترون‌سازی با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه، کشت بذرهای خراش داده شده در محیط کشت MS انجام شد. با رویش ریشچه و ساقچه در محیط کشت، ساقچه از محل یقه قطع شده و شاخه‌زایی در محیط کشت MS با هورمون‌های شاخه‌زایی BAP و 2iP در محدودهٔ غلظتی ۰/۳ تا ۰/۵ mg/l مورد بررسی قرار گرفت. میزان شاخه‌زایی و رشد طولی با ۷ تیمار محیط کشتی در قالب طرح‌های کامل تصادفی انجام و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن (α=۰/۰۵) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بهترین شاخه‌زایی به همراه رشد طولی مناسب و ضریب ازدیاد بیشتر در محیط کشت MS با نصف میزان نیترات به همراه هورمون‌های BAP و2iP (۰/۳ mg/l) و IBA (mg/l) ۰/۰۱ انجام پذیرفت. ریشه‌زایی شاخه‌های حاصل در ۱۵ تیمار مختلف از لحاظ میزان استفاده از هورمون‌های ریشه‌زایی، نیمه جامد یا مایع بودن بستر کشت و کاهش شکر و عناصر پرمصرف مورد آزمون قرار گرفت. ریشه‌زایی در محیط کشت MS تغییر یافته، با یک سوم غلظت عناصر پرمصرف (به استثنای ترکیبات آهن)، یک دوم غلظت نیترات و یک سوم مقدار شکر (ساکارز) استاندارد، همراه با هورمون IBA (۰/۵ mg/l) صورت گرفت. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده پس از انتقال به گلدان‌های حاوی مخلوط خاک برگ، پرلیت و ماسه به نسبت مساوی (۱:۱:۱) برای طی مراحل مختلف سازگاری به ژرمیناتور و سپس به گلخانه منتقل شدند.

کلمات کلیدی: جوانه‌زنی، سلول‌های سرطانی، هورمون، کشت بافت، آندوسپرم، شیشه‌ای شدن، ریشه‌زایی و سازگاری

www.SID.ir

Pajouhesh & Sazandegi No 75 pp: 173-178

In vitro micropropagation of _Denderostellera lessertii_ Van Tiegh

By: A. Ghamari Zare, Research Inistitute of Forests and Ranglands, Tehran, Iran.
M. Ghorbanli, Scientifice Board Member of Gorgan Azad Islamic University, Gorgan, Iran.
S. Hosseini, Master of Science Student of Payame Noor University, Tehran, Iran.
S. Shahrzad, Research Inistitute of Forests and Ranglands, Tehran, Iran.

Dendrostellera lessertii Van Tiegh has been distributed around rangeland of Iran as an endemic plant species. The plants were not interest for animal and poultry, because of un-palatability. It's leaves extraction contains poisonous chemical materials which prevents cancer cells progression. The pure extraction *D. lessertii's* leaves effect on alkaline phosphatase enzyme of four types of human cancer cells. The seeds of *D. lessertii* were collected from ranglands of Esfahan and Markazi provinces of Iran. Seeds, after 42 hours being under running water, were disinfect with NaOCl (1%) for 5 min and cultured on medium treatments in a complete randomized block designed and the means of them were compared with Duncan test at α=5%. The best treatment for shooting was MS medium contains ½ KNO_3, BAP (0.3 mg/l), 2ip (0.3 mg/l) and IBA (0.01 mg/l). Rooting of shoots carried out in 15 culture medium treatments (root's hormone, semi-solid or liquid substrate and concentration of sucrose and macro elements). The best treatment for rooting was 1/3 MS semi-solid contains 1/3 macro elements, ½ KNO_3 and 1/3 Sucrose, with the IBA (0.5 mg/l). Rooted plantlets translated to puts contains humus, perlit and sand with the same amount (1:1:1) in germinator for adaptability.

Keyworsd: Medicinal plant, Cancer cells, Micropropagation, Shooting, Rooting and adaptability

مقدمه

مراتع از مهمترین و با ارزش‌ترین منابع ملی کشور می‌باشند که بهره‌برداری توأم با عملیات اصلاح و احیاء آنها می‌تواند نقش اساسی در جهت حفظ آب و خاک و تأمین نیازمندی‌های کشور در زمینه فرآورده‌های پروتئینی و طب سنتی داشته باشد (۸). یکی از مهمترین جنبه‌های استفاده از مراتع وجود گیاهان دارویی است که توجه مراکز داروسازی را به خود جلب کرده است (۷). سیاه گینه (*Denderostellera lessertii* VanTiegh) از تیره مازیون (Thymelaeceae) از جمله گیاهان بوته‌ای چند ساله با ساقه چوبی است که به صورت طبیعی و خودرو در قسمت عمده‌ای از مراتع ایران، از جمله آذربایجان، منجیل، خمسه، همدان، ملایر، اراک، فارس، اصفهان، دامنه جنوبی البرز، یزد، خراسان و سمنان انتشار دارد (۱، ۱۵).

سیاه گینه از جمله گیاهان دارویی مرتعی است که می‌تواند نقش به سزایی در صنعت داروسازی داشته باشد (۱۷). خاصیت دارویی و اثر ضد توموری سیاه گینه مربوط به عصاره سمی موجود در برگ‌های آن است. اثر عصاره برگ‌های این گیاه روی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در چهار سری سلول‌های سرطانی انسان بررسی شده است. از برگ‌های این گیاه یک استری‌دی‌ترپن جدا کرده‌اند. با استخراج این استر جدید اثر این عصاره سمی برگی را روی چهار سری سلول لوسمیایی، سلول سرطانی پروستات و سلول سرطانی تیروئید مورد بررسی قرار داده‌اند. این ترکیب خالص عصاره سلولی به طور قابل توجهی تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد. همچنین از پیشرفت تصاعدی سلول‌های سرطانی در مرحله عبور از G1 به S نیز جلوگیری می‌کند (۱۷).

برای تکثیر سریع گیاهان به ویژه گیاهانی که ازدیاد غیرجنسی آن‌ها با روش‌های سنتی غیر ممکن و یا مشکل می‌باشد،(۳) و یا گیاهانی که علاوه بر مشکلات موجود در تکثیر غیرجنسی آنها نیز با مشکلات عدم پایداری ژنتیکی (Genetic instability)، عدم توان تولید بذر و یا عدم وجود بذر مناسب جهت کاشت روبرو می‌باشند، برای تکثیر آنها از روش‌های ریزازدیادی کمک گرفته می‌شود (۴). ریز ازدیادی اعم از ایجاد جوانه‌های جانبی و یا شاخسارهای درون شیشه‌ای حاصل از کشت ریزنمونه‌ها ریشه‌دار کردن، سازگار نمودن و انتقال گیاهچه‌ها، است (۵). لازمه اندام‌زدایی تمایز اندام‌های گیاهی یعنی ریشه، ساقه و برگ، در نتیجه کشت بافت‌ها و سلول‌های گیاهی می‌باشد. این توانایی، از یک یا تعدادی سلول در کالوس منشأ می‌گیرد. سلول (یا سلول‌ها) سریعاً فعال و تقسیم می‌شوند و تشکیل یک مریاستموئید را می‌دهند. مریاستموئید، یک توده سلولی شبه مریستم است که خاستگاه یک ریشه یا یک ساقه اولیه می‌باشد. بنابراین برای تکثیر سریع و تولید انبوه و جلوگیری از آسیب رساندن به مراتع و منابع طبیعی، ریزازدیادی سیاه گینه به‌روش کشت بافت، مناسب‌ترین راه برای رسیدن به این اهداف مهم است. ایجاد مزارع یکنواخت جهت تولید مواد گیاهی مقدار و نوع مواد موثره مشخص از دیگر ضرورت‌های ریزازدیادی این گیاه است. همچنین موفقیت در ریزازدیادی و کشت جنین انجام عملیات تحقیقات به‌نژادی را آسان‌تر می‌نماید.

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

بذرهای سیاه گینه از رویشگاه‌های طبیعی آن در شهرستان گلپایگان کوه حاجی‌قارا (اســتان اصفهان) و شهرستان شــازند، قره کهریز، قشلاق (استان مرکزی) جمع‌آوری گردید. بذرهای دارای جنین ســیاه گینه پس از ۴۲ ساعت خیســاندن در معرض آب جاری و سترون‌ســازی با هیپوکلریت سدیم ۱٪ یا محلول اتانول ۷۰٪، در محیط اســتریل با اسکالپل خراش مکانیکی داده شد. پس از ۴ هفته گیاهچه‌های ســیاه گینه از محل یقه قطع و شــاخه‌های منفرد در محیط کشــت MS(۱۴) همراه با هورمون‌های شــاخه‌زایی کشــت شدند. در بازکشــت شــده‌ها، ریزنمونه‌هایی به طول حدود ۱- ۰/۷۵ ســانتی‌متر در تیمارهای مختلف محیط کشــت، کشت شــدند. محیط‌های مختلف کشت با ترکیبات متعدد تنظیم‌کننده‌های رشــد (جدول ۱) جهت ازدیــاد گیاهچه‌های درون شیشــه‌ای حاصل از کشت جنین مورد استفاده قرار گرفت. آزمون اثرات تیمارهای مختلف ریزازدیادی در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار با نرم‌افزار SAS انجام شد و بهترین تیمار محیط کشت شاخه‌زایی بر اســاس درصد شاخه‌زایی (تعداد جوانه فعال و شــاخه‌های تازه ایجاد شده)، طول شاخه و تعداد جوانه تعیین شد. پس از تولید شاخه کافی در محیط کشت برتر شاخه‌زایی، اثر ۱۴ تیمار محیط کشت ریشه‌زایی (جدول ۲) بر شاخه‌های تولید شــده بررسی گردید. تیمارهای ریشه‌زایی، محیط کشــت MS با نصف غلظت نیترات همراه با غلظت‌های متفاوت هورمون‌های ریشه‌زایی بود. بهترین تیمار محیط کشت ریشه‌زایی بر اساس درصد ریشه‌زایی تیمارها، تعیین شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده برای سازگاری به گلدان‌های حاوی خاک برگ، ماسه و پرلیت به نسبت ۱:۱:۱ (استریل شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) برای طی مراحل سازگاری به ژرمیناتور و سپس به گلخانه منتقل شدند.

نتایج

تجزیه واریانس اثر هفت نوع تیمار محیط کشت (جدول ۱) بر ریزازدیادی (شاخه‌زایی) سیاه گینه مبین اختلاف بسیار معنی‌دار تیمارهای مختلف محیط کشــت در صفات شــاخه‌زایی، رشد طولی و متوســط طول جوانه بود (جدول ۳). حداکثر میانگین صفات مختلف شــاخه‌زایی (شکل ۱) تحت تأثیر محیط کشــت‌های مختلف متفاوت بود (جدول ۴). بیشــترین تعداد شاخه و حداکثر ارتفاع بلندترین شاخه در محیط کشت ۴ (MS با نصف غلظت نیترات همراه با ۰/۳ mg/l BAp ,۰/۳ mg/l kin ,۰/۳ mg/l IBA ۰/۰۱) به دست آمد ولی حداکثر ارتفاع متوسط شاخه‌ها در محیط کشت ۳ (MS با نصف غلظت نیترات همراه با ۰/۳ mg/l 2ip و ۰/۰۱ mg/l IBA) حاصل شــد (جدول ۴). همچنین بررسی

جدول ۱: اثر تیمارهای محیط کشت درون شیشه‌ای بر شاخه‌زایی سیاه گینه

ردیف	نوع محیط	نوع هورمون	مقدار هورمون mg/l	ضریب ازدیاد شاخه‌زایی	ضریب ازدیاد رشد طولی	وضعیت ظاهری شاخه‌ها
۱	MS	BAP 2ip IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۵/۴	۱/۴	برگ‌ها طبیعی، گیاه مقاوم، سبزینگی طبیعی و عدم شیشه‌ای‌شدن
۲	MS	BAP IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۵/۷۵	۱/۴	برگ‌ها باریک، سبزینگی نسبتاً طبیعی، عدم شیشه‌ای‌شدن
۳	MS	2ip IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۱/۲	۱/۸	برگ‌ها کشیده و تا حدی نافرم، سبزینگی کمتر و عدم شیشه‌ای‌شدن
۴	MS	BAP kin IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۶/۰۱	۲/۲	برگ‌های طبیعی، سبزینگی طبیعی و عدم شیشه‌ای شدن
۵	B۵	BAP 2ip IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۲/۱	۱/۳	برگ‌ها نافرم، سبزینگی کمتر و نکروزه و عدم شیشه‌ای شدن
۶	B۵	BAP IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۲/۲	۱/۳	برگ‌ها پژمرده، نکروزه و عدم شیشه‌ای‌شدن
۷	MS نیترات کامل	BAP 2ip IBA	۰/۵ ۰/۵ ۰/۰۱	۴/۶	۱/۵	برگ‌ها طبیعی، سبزینگی طبیعی و شاخه‌ها شیشه‌ای شدن.

تذکر: در تیمارهای ۱ تا ۶ نیترات در غلظت $\frac{1}{2}$ بود.

www.SID.ir

شکل ۱: شاخه‌زایی در محیط کشت بهینه

شکل ۲: ریشه‌زایی شاخه‌های بدست آمده

درصد ریشه‌زایی شاخه‌های بدست آمده در تیمارهای مختلف محیط کشت (جدول ۲)، نشان داده که بالاترین درصد ریشه‌زایی (شکل ۲) در تیمارهای محیط کشتی از تیمار ۱۲ (MS $\frac{۱}{۳}$، همراه با $\frac{۱}{۳}$ شکر، $\frac{۱}{۲}$ نیترات، ۰/۵ mg/l IBA) بدست آمد.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌علت سمیت برگ‌ها و عدم خوشخوراکی سیاه گینه تحقیقات اندکی در مورد این گیاه انجام یافته است. بر طبق اطلاعات ما این اولین مطالعه در مورد ریزازدیادی سیاه گینه است. به نظر می‌رسد که اثر انواع محیط کشت‌های مختلف بر رشد و نمو و اندام‌زایی متفاوت است. عناصر شیمیایی شامل عناصر پر مصرف و عناصر کم مصرف از عوامل اساسی محیط کشت است و فرمول نمک‌های معدنی مختلف و اجزاء متفاوت املاح (مثل نصف شدن یا دو برابر شدن قدرت محیط) می‌توانند تحریکات مختلفی را در رشد گیاهک‌های درون شیشه‌ای باعث شوند. سطوح و انواع قندها و کاهش نیتروژن محیط نیز می‌توانند ریخت‌زایی را تحت تأثیر قرار دهند (۲). همچنین فیتوهورمون‌ها در تنظیم و توسعه و اندام‌زایی درون شیشه‌ای مؤثرند (۱۱).

شیشه‌ای‌شدن نمونه‌ها، مشکل عمده کشت بافت سیاه گینه در محیط MS با نصف غلظت نیترات حاوی هورمون‌های BAp (۰/۵mg/l)، 2ip (۰/۵ mg/l) و IBA (۰/۱ mg/l) بود. به علت عدم دسترسی به ماده ضد شیشه‌ای شدن تغییرات هورمونی یا محیطی انجام شد که با انجام تغییرات هورمونی، مشکل شیشه‌ای شدن بافت‌های گیاهی برطرف گردید.

اثر محیط کشت‌های مختلف ولی با ترکیب هورمونی مشابه بر شاخه‌زایی ریزنمونه‌های سیاه گینه نشان داد که محیط کشت MS برتر از محیط کشت B_5 بود. همچنین یکی از عوامل تعیین کننده کارایی محیط کشت، قدرت یونی ترکیب‌های موجود در آن می‌باشد (۹). در بررسی تأثیر هم‌زمان دو عامل محیط کشت و غلظت هورمون بر شاخه‌زایی، رشد طولی اندام هوایی ریزنمونه‌ها، مشخص شد که بیشترین میزان تکثیر، رشد شاخه و شاخه‌زایی متعدد، از محیط کشت MS با نصف میزان نیترات به همراه هورمون‌های BAP و kin (۰/۳ mg/l) و IBA (۰/۰ ۱ mg/l) بدست آمد.

ترکیبات سه نوع هورمون شاخه‌زایی شامل BAP، 2ip و kin در دو غلظت ۰/۳ و ۰/۵ mg/l در محیط‌های MS و B_5 بر شاخه‌زایی سیاه گینه نشان داد که بیشترین شاخه‌دهی در تیمار محیط کشت ۳ که فاقد هورمون BA بود، مشاهده شد. در سه گونه Atriplex نیز هورمون BA از نظر شاخه‌زایی نسبت به دو هورمون سیتوکنین (2ip و Kin) برتر بود (۶). لیکن Baraldi (۱۰) در بررسی اثر BA بر روی *Prunus irsitta* نتیجه گرفت که BA رشد طولی شاخه‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین بر اساس تجربیات Mapes و Zaerr (۱۶)، BA از گروه‌های دیگر سیتوکینین یعنی Kin، 2ip و زآتین فعال‌تر است و از آنجا که BA از همه ارزان‌تر است و می‌توان به راحتی اتوکلاو شود، برای ریزازدیادی تجارتی که سهولت و ارزش اقتصادی اهمیت دارد، بیشتر قابل استفاده است. Gohet (۱۲) در کشت گیاه *Garcinina mangostana* ملاحظه کرد که شاخه‌های بدست آمده بر روی محیط BA نسبت به 2ip و Kin بیشتر بود.

ریشه‌زایی در محیط کشت MS (با میزان $\frac{۱}{۲}$ نیترات) و هورمون ریشه‌زایی IAB در غلظت‌ها مختلف (جدول ۲)، صورت نگرفت. اما با کاهش مقدار عناصر پرمصرف، مقدار شکر (ساکاروز)، گیاهان تحریک به ریشه‌دهی شدند. درصد ریشه‌دهی شاخه‌های حاصل در محیط کشت MS با کاهش به $\frac{۱}{۳}$ مقدار عناصر پر مصرف (به استثنای ترکیبات آهن)، کاهش میزان شکر (ساکاروز) به $\frac{۱}{۳}$ مقدار استاندارد، $\frac{۱}{۲}$ میزان نیترات و به همراه هورمون (۰/۵ mg/l IBA) برتر از سایر محیط کشت‌های ریشه‌زایی بود (جدول ۲). با کاهش غلظت عناصر پر مصرف محیط، فشار اسمزی محیط کشت کاهش یافته و این کاهش اسمزی، گیاه را وادار می‌کند تا با ایجاد ریشه و تارهای کشنده، اقدام به جذب املاح و مواد غذایی از محیط کشت کند.

در مرحله شاخه‌زایی سیاه گینه، به خصوص در مرحله اولیه که بازگشت نمونه‌ها با مقدار نیترات کامل صورت گرفته بود، ریشه‌زایی نمونه‌ها در محیط کشت شاخه‌زایی نیز دیده شد. در مرحله شاخه‌زایی با پدیده شیشه‌ای شدن نمونه‌ها مواجه گردیدیم که مجبور به تغییر محیط کشت پایه MS شدیم. حضور نیترات پتاسیم در محیط MS از جمله عواملی است که باعث یونی شدن محیط کشت و پدیده شیشه‌ای شدن می‌شود. از طرفی حضور نیترات پتاسیم که عامل ریشه‌زایی است علت ریشه‌دهی نمونه‌های اولیه را در محیط کشت MS و با نیترات کامل را تقویت می‌کند. Sriskan و همکاران (۱۶) در گیاه *Malus domestica* نتایج مشابهی بدست آوردند. آنها گیاه مزبور را در محیط MS کشت داده و با افزایش سطح‌های نیترات پتاسیم ریشه‌زایی را افزایش دادند.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول شماره ۲: تیمارهای درون شیشه‌ای ریشه‌زایی، کشت بافت سیاه گینه

ردیف	نوع محیط	نوع هورمون	میزان هورمون mg/l	وضعیت نور و دما	درصد ریشه‌زایی	وضعیت ظاهری ریشه
۱	MS	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-
۲	MS	IBA	۰/۱	روشنایی	-	-
۳	MS	IBA	۱	روشنایی	-	-
۴	MS	NAA	۰/۵	روشنایی	-	-
۵	MS	IBA ۲ip	۰/۱ ۰/۵	روشنایی	-	-
۶	$\frac{1}{2}$ MS	IBA	۰/۵	۱ - روشنایی ۲ - تاریکی	٪ ۱۰ ٪ ۴	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده
۷	$\frac{1}{2}$ MS (سوکروز $\frac{1}{2}$)	IBA	۰/۵	۱ - روشنایی ۲ - تاریکی	٪ ۳۰ ٪ ۳۰	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، قطور، ترد و شکننده ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده
۸	$\frac{1}{2}$MS (مایع) سوکوروز $\frac{1}{2}$	IBA	۰/۵	روشنایی	۰/۸	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، قطور و ترد و شکننده
۹	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$	IBA 2ip IBA 2ip IBA 2ip	۰/۵ ۰/۲ ۰/۵ ۰/۲ ۰/۵ ۰/۲	۱ -ئروشنایی ۲ - تاریکی ۳ - یک هفته دمای ۳۰°C و بعد انتقال به روشنایی	- - - - - -	- - - - - -
۱۱	½ MS سوکروز نصف	۲,۴-D	۰/۵	روشنایی	-	-
۱۰	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$	IBA 2ip IBA 2ip IBA 2ip	۰/۵ ۰/۴ ۰/۵ ۰/۴ ۰/۵ ۰/۴	روشنایی تاریکی یک هفته دمای ۳۰°C	- - - - - -	- - - - - -
۱۲	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$	IBA	۰/۵	روشنایی	٪ ۴۵	ریشه‌ها طبیعی، بلند، ترد و شکننده
۱۳	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$- مایع	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-
۱۴	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$	IBA	۰/۵	روشنایی	٪ ۲۰	ریشه‌ها طبیعی، بلند، ترد و شکننده
۱۵	$\frac{1}{2}$MS سوکروز $\frac{1}{2}$- مایع	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-

در ریزازدیادی سیاه گینه به علت مشکل شیشه‌ای شدن، در تمامی‌تیمارهای محیط کشت به ناچار نیترات محیط کاهش یافت. در نتیجه ریشه‌زایی سیاه گینه با کاهش عناصر پرمصرف و مواد قندی محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی بررسی شد. بیشترین ریشه‌زایی (۴۵٪) از محیط کشت $\frac{1}{2}$ MS (به استثنای ترکیبات آهن) با $\frac{1}{2}$ میزان شکر (ساکاروز) استاندارد و نصف میزان نیترات به همراه هورمون IBA (۰/۵ mg/l) بدست آمد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام یافت. از همکاران گروه مذکور که در این پژوهش ما را یاری نمودند سپاسگزاریم.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳: میانگین مربعات اثر تیمارهای مختلف محیط کشت بر شاخه‌زایی، رشد طولی و متوسط طول جوانه گیاه سیاه گینه (*D. lessertii*)

صفات	درجه آزادی (df)	میانگین مجموع مربعات (MS)	F محاسبه شده	pr > F
شاخه زایی	۶	۴۰۶/۹۵	۸/۳۷	۰/۰۰۰۲
رشد طولی	۶	۹/۹۴	۳/۷۹	۰/۰۱۳۴
متوسط طول جوانه	۶	۱/۹۴	۴/۹۷	۰/۰۰۳۷

جدول ۴: مقایسه میانگین تیمارهای مختلف محیط کشت‌های (جدول ۱) بر شاخه‌زایی در ریزازدیادی سیاه گینه (D. lessertii) به روش دانکن

تعداد شاخه		حداکثر طول بلندترین شاخه (cm)		متوسط طول شاخه‌ها (cm)	
محیط کشت	میانگین	محیط کشت	میانگین	محیط کشت	میانگین
۴	۳۰/۲۵۰ ab	ژ	۱۰/۸۷۵ a	۳	۲/۲۱۷a
۲	۲۹/۰۰۰a	۳	۹/۱۲۵ab	۶	۰/۶۹۷b
۱	۲۶/۷۵۰a	۷	۷/۶۲۵b	۵	۰/۶۵۰b
۷	۲۳/۰۰۰a	۲	۷/۲۵۰b	۴	۰/۳۹۵b
۶	۱۰/۷۵۰b	۱	۷/۰۳۸b	۷	۰/۳۴۷b
۵	۱۰/۵۰۰b	۵	۶/۶۲۵b	۱	۰/۲۶۷b
۳	۶/۰۰۰b	۶	۶/۶۰۰b	۲	۰/۲۵۷b

میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری در سطح (۵٪ =a) اختلاف معنی‌داری ندارند.

منابع مورد استفاده

۱ - اخیانی، خدیجه. ۱۳۷۴، فلور ایران تیره مازریون، شماره ۱۵. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۲ - امام، میترا و علی جعفری مفیدآبادی. ۱۳۸۲، ریزازدیادی سفید پلت (*Populus caspica*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران (۹)، صفحه ۱۲۱- ۱۱۳، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۳ - حاج نجاری، حسن، ۱۳۷۳، ریزازدیادی. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهران، ایران.

۴ - جعفری مفیدآبادی، علی و سیدرضا طبائی عقدایی، ۱۳۸۰، بیوتکنولوژی گیاهی (روش‌ها و کاربردها). مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۵ - زرگری، علی. ۱۳۶۹، گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ و انتشارات دانشگاه تهران.

۶ - شاهمیر، فریبا. ۱۳۷۵، کشت اندام‌ها و بافت‌های گیاه Atriplex با هدف به‌نژادی و افزایش مقاومت به شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد.

۷ - صدیقی، محمدباقر. ۱۳۵۴، ارزش گیاهان دارویی از نظر احیاء طب سنتی ایران. سمینار بررسی مسائل پوشش گیاهی ایران، دانشگاه تهران.

۸ - کردوانی، پرویز ۱۳۷۱. مراتع مسائل و راه حل‌های آن در ایران. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

9- Bonga, J.M. and P.V. Aderkas 1992; *In vitro* culture of trees. Kluwer Academic Publishers. pp.236.

10- Baraldi, R. 1988; *In vitro* shoot development of prunus GF- 655- 2: Interaction between light and benzylandenine. Physiol. Plant, 74:440-443.

11- Gupta, M. and J. Agrawal 1990; *In vitro* plantlet development from 15 years old explant of *P. euravmericana* a hybrid poplar. Plant Science, 8: 99- 105.

12- Gohet, Ra. .1990; Direct shoot bud formation from leaf explants of seedlings and mature mangosteen (*Gareinia mangostana* L.) trees. Plant Sci. 68: 113- 121.

13- Mapes, Mo. and J.B. Zaerr 1982. Multiplication *in vitro* du Douglas. Par induction precoe precoe d'un bourgeonnement adventif et exillaire in: colloque international sur la culture in vitor des.essen cess forestieves, iufro section, 520. 1,5 fontainebleau, Afocel, pp 109- 114.

14- Murashig, T. 1974; Plant propagation through tissue culture. Annu. Re. Plant Physiol, 25: 135- 166.

15- Rechinger, K.H. 1972; Flora Iranica. Akademische, Druck-U. verlagsanstalt, Graz, Austria, No. 95/1.12.

16- Sriskan, D., S. Skirrin and R.M. Abu-Qauoud 1990. The effect of some macronutrients on the adventitious root development on scion apple cultivars. *In vitro* Plant, Cell, Tissue and Organ Culture, 21:185-189

17- Yazdanparast, R., H. Sadeghi and D.L. Smith 2002; Isolation and structure elucidation of a new potent antineoplastic diterpene from *Dendrostellera lesscrtii.*

Archive of SID
www.SID.ir