شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گیاه انجبار (*Polygonum bistorta*) در شرایط *In vitro*

نعیمه کاوسی*[۱]، حسین عباسپور[۲]، مهرداد چائی‌چی[۳]

[۱] کارشناس‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد واحد دامغان، دامغان، ایران

[۲] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد واحد دامغان، دامغان، ایران

[۳] استادیار، گروه کشاورزی، دانشگاه علمی کاربردی واحد همدان، همدان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۶/۲۷

چکیده

در این پژوهش، اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در تکثیر شاخه‌ها و ریشه‌ها از جوانه‌های انتهایی *P.bistorta* مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از تیمارهای کینتین در سه غلظت ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر و بنزیل آدنین در غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر و استفاده همزمان بنزیل آدنین با نفتالین استیک اسید که در آن بنزیل آدنین در سه غلظت ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر و نفتالین استیک اسید در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر با ۳ تکرار به صورت جداگانه در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ انجام گردید. گیاهچه‌ها با استفاده از روش کشت جوانه‌های انتهایی در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ در شرایط نوری و دمایی مناسب تکثیر شدند و پس از گذشت یک ماه، گیاهچه‌ها به رشد کافی رسیده و جهت ریشه‌زایی آماده شدند. آزمایش دوم گیاهچه‌های تکثیر شده در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با استفاده از تیمار ایندول بوتیریک اسید در چهار غلظت ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر با ۳ تکرار به صورت جداگانه به منظور ریشه زایی قرار گرفتند. پس از گذشت ۴۵ روز که گیاهچه‌ها به طور کامل ریشه دار شدند. سپس به گلخانه منتقل و در گلدان کشت گردیدند و به دنبال آن عملیات داشت (آبیاری، کودهی و سمپاشی) در گلخانه انجام شد. نتایج حاصل از تجزیه داده‌ها نشان داد که اعمال تنظیم‌کننده‌های رشد در غلظت‌های مختلف، سبب تولید شاخه، برگ و ریشه با اندازه‌های مختلف گردید. BA در سطح ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در تولید شاخساره و برگ داشت و تلفیق BA+NAA تقریبا در اکثر موارد کمترین تاثیر را روی تولید شاخه و برگ داشتند. IBA در سطح ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر سبب افزایش طول ریشه و در سطح ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر روی تعداد ریشه‌ها اثر گذاشت.

واژگان کلیدی: انجبار، ایندول بوتیریک اسید، بنزیل آدنین، ریشه زایی، شاخه زایی، کینتین، نفتالین استیک اسید+ بنزیل آدنین

مقدمه

گیاه انجبار چند ساله با نام علمی (*Polygonum bistorta*)، از خانواده‌ی Polygonaceae است (آزادبخت، ۱۳۷۸). با ارتفاع بیش از یک متر ساقه آن صاف و ساده، ریزوم بزرگ پیچدار، انشعابی و چوبی، برگ‌های قاعده‌آن بزرگ و نیزه‌ای، برگ‌هایش در بالا سبز و در زیر کرکدار و کدر است. برگ‌های زیرین دمبرگ درازی دارند سایر برگ‌ها بی‌پایه‌اند. در انتهای

*مسئول مکاتبه: kavosi_nk397@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

ساقه راست آن گل‌های صورتی به شکل خوشه‌ای دیده می‌شود. گل‌ها به رنگ گلی یا صورتی کمرنگ با گلپوش منفرد و پرچم‌ها از بیرون دیده می‌شوند. میوه فندوقه و سه‌وجهی است. دوران گل‌دهی خرداد تا شهریور و زمان برداشت ساقه زیرزمینی شهریور تا آبان و اسفند می‌باشد (Delima et al., 2010). قسمت‌های مورد استفاده ریزوم، ریشه، برگ گیاه است که در فصل پاییز ریزوم آن جمع‌آوری و در آفتاب خشک می‌شود (Shan, 1987). آنالیز شیمیایی نشان داده است که گیاه حاوی مقادیر قابل توجه تانن است. (Cao et al., 2007).

طبع این گیاه سرد و خشک است و از نظر خواص درمان ضد تب، ضد اسهال و ضد هموروئید می‌باشد (Gopi et al., 2006). همچنین از سوزش مجاری ادرار، خون ریزی‌های داخلی و خارجی، سقط جنین جلوگیری می‌کند (Chen et al., 2006). این گیاه در مراتع مرطوب نواحی کوهستانی اروپا و سراسر بریتانیا و استان همدان، تبریز یافت می‌شود (Hassan et al., 2008). بهترین محیط برای شاخه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر کینتین و بهترین محیط کشت را برای ریشه‌زایی گیاه دارویی پلی‌گونیوم محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید معرفی کردند (Jin et al., 2008).

اظهار شده است که غلظت زیاد هورمون‌ها در بعضی از گیاهان دارویی اثر منفی در رشد آن‌ها دارد (Begum et al., 2002). در تحقیقی مشخص شد که غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین مناسب ترین تیمار برای شاخه‌زایی و غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید بهترین تیمار ریشه زایی است (Caro et al., 2002). از آنجایی که تکثیر این گیاه بسیار دشوار است در این پژوهش تکثیر این گونه به روش کشت بافت مورد بررسی قرار گرفت در تکثیر این گیاه به روش ریزازدیادی شاخه زایی به خوبی انجام شد و شاخه‌های ایجاد شده از رشد مناسبی برخوردار هستند با توجه به موارد فوق آزمایش جهت بررسی ریزازدیادی پلی گونیوم انجام شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور ریزازدیادی این گیاه تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در آزمایشگاه کشت بافت و گلخانه مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان همدان انجام شد. آزمایش اول جهت تحریک تولید شاخساره گیاه انجبار آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و تیمارهای مورد بررسی شامل هورمون کینتین در سه غلظت ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر، بنزیل آدنین در غلظت ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر و ترکیب هورمونی بنزیل آدنین با نفتالین استیک اسید، که در آن بنزیل آدنین در سه غلظت ۰/۲، ۰/۳ و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر و نفتالین استیک اسید در دو غلظت ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر در محیط پایه موراشیگ و اسکوگ استفاده شد. انتقال جوانه‌های انتهایی در شیشه‌های کوچک حاوی ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت در زیر هود انجام شد و سپس در اتاقک رشد قرار داده شد. هنگامی که گیاهچه‌ها به رشد کافی رسیدند جهت ریشه‌زایی آماده شدند.

آزمایش دوم جهت تحریک تولید ریشه در گیاهچه‌های تکثیر شده حاصل از جوانه‌های انتهایی از یک طرح کاملاً تصادفی با چهار غلظت تیمار ایندول بوتیریک اسید شامل ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر با ۳ تکرار در محیط پایه موراشیگ و اسکوگ استفاده شد. بدین منظور از ارلن ۲۵۰ سی‌سی حاوی ۲۰cc محیط کشت استفاده شد. پس از انتقال گیاهچه‌ها درب شیشه‌ها با فویل آلومینیوم بسته شده و در داخل اطاقک رشد با دمای ۲±۲۲ و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. منبع نور

Archive of SID

www.SID.ir

لامپ فلورسنت معمولی در نظر گرفته شد. گیاهچه‌ها پس از ریشه‌دار شدن در محیط درون شیشه‌ای، به گلخانه منتقل گردیدند. بدین منظور از گلدان‌های ۴ کیلوگرمی حاوی پیت موس و پرلیت استفاده شد. جهت ایجاد سازگاری در مراحل اولیه انتقال به گلخانه از لیوان‌های کوچک شفاف پلاستیکی بر روی گیاهچه‌ها استفاده گردید. در طول دوره رشد مراقبت های لازم از جمله حفظ دائمی رطوبت خاک مد نظر قرار گرفت. در طی مراحل ارزیابی در شرایط درون شیشه‌ای طول ریشه و تعداد ریشه اندازه‌گیری شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

نتایج استفاده از این سه تیمار نشان داد که پس از گذشت یک ماه گیاهچه‌ها به رشد کافی رسیده و جهت ریشه‌زایی آماده شدند (شکل ۱). نتایج حاصل از ریشه‌زایی نمونه‌ها نشان داد که پس‌از ۴۵ روز، گیاهچه‌ها به‌طور کامل در محیط کشت درون شیشه‌ای ریشه‌دار شده و جهت انتقال به گلخانه آماده گردیدند (اشکال ۲ و۳). دو هفته پس از انتقال گیاهچه‌ها (شکل ۴) به گلدان و سازگاری آن‌ها به محیط جدید نسبت به آبیاری منظم گیاهچه‌ها به‌صورت هفتگی اقدام گردید.

شکل ۱. گیاهچه‌های تولیدی

شکل ۲. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده

شکل ۳. انتقال گیاهچه‌ها به گلدان

شکل ۴. گیاهچه‌های تکثیریافته در شرایط گلخانه

تجزیه واریانس صفات طول شاخه، تعداد برگ، طول ریشه، تعداد ریشه، نشان داد که اثر هورمون ایندول بوتیریک اسید درسطح ۱ درصد معنی‌دار می‌باشد که در جداول ۱ و ۲ مشاهده شد.

جدول ۱. تجزیه واریانس صفت طول شاخه و تعداد برگ

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات طول شاخه	میانگین مربعات تعداد برگ
هورمون	۱۱	۱/۰۹**	۱/۳۵۰**
خطا	۲۴	۰/۳۲۷	۰/۰۹۷۲
کل	۳۵		

** نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲. تجزیه واریانس صفت طول ریشه و تعداد ریشه

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات طول ریشه	میانگین مربعات تعداد ریشه
هورمون	۱۱	۱/۶**	۲/۴۱**
خطا	۲۴	۰/۱۹۹	۰/۳۷۷
کل	۳۵		

** نشان دهنده معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد می‌باشد.

در جدول ۳ مقایسه میانگین صفت طول شاخه تحت‌تاثیر تیمارهای هورمونی نشان داد که هورمون بنزیل آدنین در سطح ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در تولید شاخساره داشت هر چند با سطوح دیگر همین هورمون اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. البته اختلاف معنی‌دار بین سطوح ۱ و ۳ هورمون کینتین با هورمون بنزیل آدنین نیز مشاهده نشد هر چند سطح ۲هورمون کینتین تاثیر معنی‌دار کمتری نسبت به هورمون‌های یاد شده در تولید شاخساره نشان داد. ترکیب هورمون‌های بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید تقریبا در اکثر موارد کمترین کارآیی را در تولید شاخساره داشتند. مقایسه میانگین صفت تعداد برگ تحت تاثیر تیمارهای هورمونی نشان داد که هورمون بنزیل آدنین در سطح ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بیشترین تاثیر را در تولید برگ داشت و با سطوح ۰/۲ همین هورمون اختلاف معنی‌دار مشاهده شد. البته اختلاف معنی‌دار بین سطوح ۰/۱ هورمون کینتین با هورمون بنزیل آدنین نیز مشاهده شد هر چند سطح ۰/۲ و ۰/۳ هورمون کینتین تاثیر معنی‌دار کمتری نسبت به هورمون‌های یاد شده در تولید برگ نشان داد. ترکیب هورمون‌های بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید تقریباً در اکثر موارد تاثیر کمتری را در تولید برگ داشتند.

جدول ۳. مقایسه میانگین صفت طول شاخه و تعداد برگ تحت تأثیر هورمون‌های مختلف با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد

سطوح هورمون	میانگین صفت طول شاخه	سطوح هورمون	میانگین صفت تعداد برگ
بنزیل آدنین ۰/۱	۲/۶۴۱۷ a	بنزیل آدنین ۰/۱	۲ a
بنزیل آدنین ۰/۲	۲/۳۹۱۷ ab	بنزیل آدنین ۰/۳	۱/۶۶۷ ab
کینتین۳	۲/۳۷۵۰ab	نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۳	۱/۵۰ abc
بنزیل آدنین ۰/۳	۲/۳۵۰۰ abc	نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۲	۱/۳۳۳ bc
کینتین۱	۱/۷۵۰۰abcd	نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۲	۱/۳۳۳ bc
نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۳	۱/۷۴۱۷ abcd	کینتین۱	۱/۳۳۳ bc
نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۲	۱/۶۶۶۷ abcd	نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۳	۱/۳۳۳ bc
کینتین۲	۱/۵۰۸۳ bcd	نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۴	۱/۱۶۶bcd
نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۲	۱/۴۵۸۳ bcd	بنزیل آدنین ۰/۲	۱/۱۶۶bcd
نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۴	۱/۲۵۸۳ cd	کینتین۲	۱ cd
نفتالین استیک اسید۰/۱+ بنزیل آدنین ۰/۳	۰/۹۵۵۰ d	کینتین۳	۱ cd
نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۴	۰/۷۳۳۳ d	نفتالین استیک اسید۰/۲+ بنزیل آدنین ۰/۴	۰/۶۶۶ d

Archive of SID

www.SID.ir

مقایسه میانگین صفت طول ریشه در جدول ۴ نشان داد که سطوح ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیترهورمون ایندول بوتیریک اسید بیشترین میانگین‌ها را به خود اختصاص داده و دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵ با غلظت هورمونی ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید می‌باشند. مقایسه میانگین صفت تعداد ریشه نشان داد که سطح ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون ایندول بوتیریک اسید باعث افزایش معنی‌دار ($P\leq0.05$) این صفات در گیاهچه‌های تکثیر شده نسبت به سطوح ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر گردید.

جدول ۴. مقایسه میانگین صفت طول ریشه و تعداد ریشه تحت تأثیر سطوح مختلف هورمون ایندول بوتیریک اسید

سطوح هورمون ایندول بوتیریک اسید	میانگین طول ریشه	سطوح هورمون ایندول بوتیریک اسید	میانگین تعدادریشه
۰/۵	۱/۲۵۸۹a	۰/۵	۲/۸۹۶۸a
۱	۱/۷۶۸۰a	۱	۱/۷۰۰۶ b
۱/۵	۰/۴۸۶۰b	۱/۵	۱/۰۳۹۷ b
۲	۰/۴۶۹۳b	۲	۱/۶۶۰۹ b

* حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

بحث

طول و تعداد شاخه و ریشه

بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر رشد طول شاخه و ریشه و تعداد برگ و ریشه نشان داد که شاخه‌های به‌دست آمده از محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بیشترین میزان رشد طولی را داشتند و بررسی شاخه‌های انتقال یافته به محیط ریشه زایی نشان داد که بهترین تیمار از نظر طول ریشه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید است. در تحقیقی نشان داد شد که بهترین محیط برای شاخه‌زایی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین و بهترین شرایط برای ریشه‌زایی در شرایط آزمایشگاهی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید می‌باشد (Bisht, 2012).

Hassan و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که بهترین محیط برای شاخه‌زایی ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون کینتین است که با نتایج تحقیق هیچ مغایرتی ندارد و بهترین محیط کشت برای ریشه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید بود. گیاهان ریشه‌دار شده به خاک تحت شرایط طبیعی منتقل شده و با موفقیت سازگار گردیدند. Daniel و همکاران (۲۰۱۰) آزمایشاتی که از طریق کشت میانگره‌های شاخساره‌های جانبی در شرایط درون شیشه‌ای انجام دادند. شاخساره‌های رشد کرده در محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی نصف نمک‌های معدنی و ۱/۵میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید به خوبی ریشه‌دار شدند. Lin و همکاران (۲۰۰۳) به این نتیجه رسیدند که بهترین محیط برای شاخه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین و بهترین ترکیب هورمونی برای ریشه دار شدن نفتالین استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید می‌باشد. همه شاخه‌های ریشه دار به گلدان حاوی خاک منتقل و با موفقیت درگلخانه با رطوبت بالا سازگاری پیدا کرده اند. Pattnaik و همکاران (۱۹۹۶) با مطالعاتی که انجام دادند بهترین محیط برای تکثیر شاخه‌ها محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر و بهترین محیط برای ریشه‌دار شدن موراشیگ و اسکوگ با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک‌اسید است. Khatun و همکاران (۲۰۱۰) اظهار داشتند که بهترین محیط برای تولید شاخه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین است و همچنین گیاهچه‌ها در محیط موراشیگ و اسکوگ باغلظت یک میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید

Archive of SID

www.SID.ir

به‌مدت ۲۵ روز از کشت ریشه دار شدند گزارش شده است. بهترین نتایجی که برای تولید شاخه به‌دست آمد محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۸/۹ مول هورمون بنزیل آدنین است شاخه‌های رشد یافته را جدا و برای تشکیل ریشه در محیط موراشیگ و اسکوگ با غلظت ۴۶/۲ مول ایندول بوتیریک اسید قرار دادند. نتایج نشان داد که گیاهچه‌ها در این محیط ریشه دار شدند (Soniya, 2002). Rani و همکاران (۲۰۰۶) به این نتیجه رسیدند که بهترین محیط برای شاخه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین و بهترین ترکیب هورمونی برای ریشه دار شدن ایندول بوتیریک اسید می‌باشد. همه شاخه‌های ریشه دار را به گلدان حاوی خاک منتقل کردند.و با موفقیت درگلخانه با رطوبت بالا سازگاری پیدا کرده اند. Lal و همکاران (۱۹۹۳) نتیجه گرفتند که بهترین محیط برای شاخه‌زایی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین و بهترین شرایط برای ریشه‌زایی محیط موراشیگ و اسکوگ حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید می‌باشد. Hong و همکاران (۲۰۰۵) با مطالعاتی که انجام دادند بهترین محیط برای تولید شاخه ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون بنزیل آدنین معرفی کردند. همچنین گیاهچه‌ها در محیط موراشیگ و اسکوگ باغلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید ریشه دار شدند. Islam و همکاران (۲۰۰۸) اظهار داشتند که شاخه‌ها در محیط موراشیگ و اسکوگ که حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین هستند رشد کردند. همچنین شاخه‌های انتقال یافته به محیط ریشه‌زایی با غلظت بالای ایندول بوتیریک اسید از بین رفتند که مطابق با نتایج ما می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طورکلی جهت ریزازدیادی درون شیشه‌ای گیاه انجبار با توجه به تحقیقات انجام شده در مرحله تولید شاخساره بهترین هورمون بنزیل آدنین با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و در مرحله ریشه‌زایی بهترین هورمون ایندول بوتیریک اسید با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر حاصل گردید به نظر می‌رسد که استفاده از سطوح پایین هورمون بنزیل آدنین (مقدار ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و هورمون ایندول بوتیریک اسید (مقدار۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) جهت تحریک شاخه‌زایی و ریشه‌زایی در گیاه انجبار از لحاظ طول و تعداد شاخه و ریشه مناسب می‌باشد. در این تحقیق افزایش سطح هورمونی بیش از مقدار قید شده اثر منفی بر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گیاه مزبور نشان داد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از ریاست محترم دانشگاه آزاد دامغان جناب آقای دکتر حسین عباسپور و مسئول محترم کشت و بافت جناب آقای مهندس چائی چی و همکارانی که در مرکز تحقیقاتی استان همدان به عناوین مختلف اینجانب را یاری نمودند کمال تشکر و امتنان را دارم.

منابع

آزادبخت، م. (۱۳۷۸). رده بندی گیاهان دارویی، موسسه فرهنگی انتشاراتی تیمورزاده صفحه ۷۴.

Begum, F., Amin, N. and Azad, A.K. (2002). In vitro rapid clonal propagation of ocimum basilicum L. Plant Tissue Culture. Indian Journal of Multidisciplinary Research.12:27-35.

Bisht, N. (2012). Invitro micropropagation in *Polygonum verticillatum* (L.) All. an important Threatened medicinal herb of Northern India. An International Journal of Functional Plant Biology. 89: 894-912.

Chen, U., Hsia, C., Yeh, M., Agrawal, D.C. and Tsay, H. (2006). In vitro micropropagation and exvitro acclimation of *Bupleurum kaoi-An* endangered medicinal plant native to Taiwan Journal of Plant Physiology. 42: 128-133.

Cao, H., Yang, J., Peng, Z.S., Kang, C.Y., Chen, D.C., Gong, Z.C. and Tan, X. (2007). Micropropagation of *Penthorum chinense*

Archive of SID

www.SID.ir

through axillary bud. In vitro Cell Dev.Online Journal Biological Sciences. 43: 149-153.

Caro, L.A., Lindstrom, P.A., Echenique, C.V. and Hernandez, L.F. (2002). Micropropagation of *Prosopis chilensis (*Mol.) stuntz from young and mature plants. Biocell Reports 26: 25-33.

Daniel, A., Kalidass, C. and Mohan, V.R. (2010). In Vitro multiple shoot induction through axillary bud of *Ocimum basilicum* L. an importent medicinal plant. Plant Physiology. 1: 24-28.

Delima, S., Moreira, D. and Affonsso, V. (2010). Micropropagation of *Polygonum acr Kunth* var. Aquatile (mart.) Meisn, and seasonal variation of tannins in acclimatized plans. Plant cell Reports. 7:573-578.

Gopi, C., Nataraja Sekhar, Y. and Ponmurugan, P. (2006). In vitro multiplication of *Ocimum graissimum* L. Through direct regeneration. African journal of Biotechnology. 9: 723-726

Hassan, M.F., Rahman, M.S., Hossain, M.S. and Rahman, M. (2008). Micropropagation from shoot tips and nodal segments of *Cassia alata* L. BangladeshJournalof Botany.4:70-74.

Hassan, M.F. and SiKdar, B. (2010). In vitro propagation of *Polygonum* L. form shoot TipsJourmal of Biology. 20: 73-79.

Hong, X., Wang, H. and Chan, D. (2005). Callus Culture of *Polygonum multiforum* root tuber. Journal of.Agriculture Technology.12: 800-810.

Islam, M.T., Keller, E.R.J. and Philibert, D. (2008). Effect of growth regulators on in vitro propagation and tuberisation of four *Dioscorea* species. Plant Tissue Cultuer Biotechhnology 18: 25-35.

Jin, Z. and Jun, M. (2008) Effect of Induction and proliferation *Polygounm bistorta* L. Callus Biology and Pharmacology.15: 21-30.

Khatun, M., Hossain, S.M., Haque, A.M. and Khalekuzzaman, M. (2010). Invitro propagation of *Citrullus lanatus* Thumb.from nodal explants culture. Biologia Plantarum. 8: 203-206.

Lal, N. and Ahuja, P.S. (1993). Assessment of liquid culture procedure for in vitro propagation of Rheum emodi. Plant Tissue Organ Cultuer Boilogy Plant.34: 223-226.

Lin, L.C., Nalawade, S.M., Mulabagal, V., Yeh, M.S. and Tsay, H.S. (2003). Micropropagation of *Polygonum multiflorum* THUNB and quantitative analysis of the anthraquinonese emodin and physcion formed in invitro propagated shoots and plants. Biology Pharmacology Bullten.26:1467-1471

Pattnaik, S. and Chand, P.K. (1996). In vitro propagation of the medicinal herbs *Ocimum amerinum* L. syn. *Ocimum canum sims.* and *Ocimum sanctum*. (holy basil). Plant cell Reports.15: 846-850.

Rani, G. Talwar, D. Nagpal, A. and Virk. G.S. (2006). Micropropagation of Coleus blumei from nodal segments and shoot tips.Biologia Plantarum. 50: 496-500.

Shan, N.C. Kukreja, A.K. Mathur, A. Ahuja, P.C. and Mathur, J. (1987). Invitro propagation of *Valeriana wallichii*. Planta Medica. Journal Biological Research. 39: 187-277.

Soniya, E.V. (2002). In vitro micropropagation of Piper longum- an important medicinal.Plant Physiology. 70: 325-303.

Archive of SID

www.SID.ir