مجله علوم پایه دانشگاه آزاد اسلامی، (JSIAU)
جلد ۱۹، شماره ۷٤/۱، زمستان ۱۳۸۸

بهینه سازی شرایط کشت در شیشه گیاه *Eucalyptus polyanthemos* L. و بررسی اثر سالیسیلیک اسید (SA) بر آن

زهرا داراب*
گروه زیست شناسی، واحد اراک، دانشگاه آزاد اسلامی ، اراک، ایران
احمد مجد، فیروزه چلبیان
گروه میکروبیولوژی ، واحد تهران شمال، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۸۷/٤/۳۰ **تاریخ پذیرش:** ۸۸/۱/۱۷

چکیده

مقدمه: اوکالیپتوس از گیاهان ارزشمند داروئی – صنعتی است که علاوه بر کاربردهای وسیع داروئی برای تهیه خمیر کاغذ و تهیه تراورس مورد توجه است. سالیسیلیک اسید از ترکیبات آنتی اکسیدان است که در سالهای اخیر به منظور افزایش مقاومت گیاهان به ویژه در محیط های کشت در شیشه و نیز افزایش اندام زایی گیاهان به کار گرفته می شود. این ترکیب مانند سایر آنتی اکسیدانها می تواند با خنثی کردن رادیکال های آزاد از جمله Ros که در فعالیتهای متابولیکی مخصوصا" در میتو کندریها و کلروپلاستها ایجاد می شوند در سلامت ساختارهای سلولی موثر باشد.

هدف: در این تحقیق نقش غلظت های متفاوت صفر، ۰/۱و SA ۰/۲۵ g.l-1 بر کشت های درون شیشه ای گیاه *Eucalyptus polyanthemos* همراه با تیمارهای هورمونی (IBA ٥ mg.l-1 , Kin ٥mg.l-1) و (NAA ٥ mg.l-1 , ٢ip ٥mg.l-1) در محیط کشت پایه MS مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: هر آزمایش سه تکرار همزمان داشت برای هر تکرار ٤ ظرف پتری در نظر گرفته شد. بررسی آماری نتایج با مقایسه میانگین تکرار ها، استفاده از تست دانکن انجام شد.

*عهده‌دار مکاتبات: zh_darab@yahoo.com

Archive of SID
www.SID.ir

نتایج: نتایج آزمایشها و بررسیهای آماری آنها نشان داد که، جدا کشتها ی برگ لپه ای نسبت به سایر جداکشتها از جمله جداکشتهای محور زیر لپه ای کالوس زایی و ریشه زایی بهتری دارند. شروع کالوس زایی و اندامزایی بین نمونه های شاهد(بدون SA) و تحت تیمار (دارای SA) تفاوت قابل توجهی نداشت. گیاهچه های حاصل از کشتهای در شیشه پس از گذرانیدن مرحله انتقال در مخلوط ورمی کولیت به گلدان منتقل شدند. پایداری و زنده ماندن گیاهچه ها حدود ۷۰٪ بود. در صد پایداری و زنده ماندن گیاهچه هایی که تحت تیمار SA بودند، بیشتروحدود ۹٤٪ بود.

نتیجه گیری: در این تحقیق نقش غلظت های متفاوت SA بر کشت های درون شیشه ای گیاه اوکالیپتوس همراه با تیمارهای هورمونی در محیط کشت پایه MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که، جدا کشتها ی برگ لپه ای نسبت به سایر جداکشتها از جمله جداکشتهای محور زیر لپه ای کالوس زایی و ریشه زایی بهتری داشته و پایداری زنده ماندن گیاهچه هایی که تحت تیمار SA بودند، بیشتر می باشد.

واژه‌های کلیدی: اوکالیپتوس، سالیسیلیک اسید(SA)، کشت بافت

مقدمه

گیاه اوکالیپتوس ارزش صنعتی و دارویی زیادی دارد و در سالهای اخیر استفاده از چوب آن برای تهیه خمیر کاغذ و صنایع نساجی بسیار مورد توجه است. چوب اوکالیپتوس از لحاظ مقاومت به کشش ها، مقاومت به ترکیدن ، پاره شدن و همچنین براقیت زیاد نسبت به چوبهای دیگر برتری دارد.[۱] برگ ها، پوست ساقه و عصاره های متفاوت استخراج شده از گیاه اوکالیپتوس کاربردهای عمده دارویی دارند. ترکیب اصلی عصاره ها ی آن اوکالیپتول یا سینئول است که دارای خواص دیافورتیک ، اکسپکتورانت وضد مالاریایی است.[۲-٤] ترکیباتی موسوم به ماکروکارپال از عصاره برگ های جوان اوکالیپتوس بدست می آید که بر علیه با کتری های گرم مثبت و میکرو ارگانیسم های دهانی کاربرد دارند. [۵-۸] اثر مهاری آن بر اشریشیاکلی نیز ثابت شده است.[۵] عوامل ماکروکارپالی بدست آمده از برگ ها و گلبرگ های *Eucalyptus globules* فعالیت ضد آنزیم نسخه بردار معکوس در ویروسHIV را نشان داده اند.[۹] گیاه اوکالیپتوس دارای فعالیت مهاری روی آزاد سازی هیستامین است که این خاصیت در عصاره اتانولی آن یافت شده و می تواند اثر مهمی در درمان آسم داشته باشد. [۱۰] سالیسیلیک اسید(SA) به عنوان ترکیب شبه هورمونی در سالهای اخیر به وسیله پژوهشگران در تحقیقات متفاوتی مورد استفاده قرار گرفته استJian-pin و همکاران در سال۲۰۰۱ گزارش کرده اند که SA موجب افزایش سطح H_2O_2 در بافت های گیاهی می شود واز این راه مقاومت گیاهان به عوامل بیماری زا را افزایش می دهد. [۱۱] تاثیر تحریکی SA روی رشد، گل دادن ومیوه دهی در محصولات یک ساله روز کوتاه وبلند گزارش شده است. [۱۲و۱۳] برای گل دهی و تشکیل میوه درخت انبه، SA از مهمترین عوامل محسوب می شود. [۱٤] SA فعالیت فتوسنتری برگ ها را افزایش می دهد. فعالیت آمیلازی در اثر SA افزایش می یابدودر مرحله رسیدن میوه به حداکثر می رسد. SA جذب یون را توسط ریشه ها کنترل می کند و هدایت روزنه ای را تنظیم می نماید. [۱۵] SA باعث افزایش مقاومت نهال های

Archive of SID

www.SID.ir

گندم نسبت به شوری و کمبود آب می گردد. مقاومت ذرت در مقابل دمای کم، مقاومت گوجه فرنگی و باقلا در مقابل دماهای کم یا زیاد را نیز افزایش می دهد. [۱۷]عملکرد آسیب زننده فلزات سنگین روی برنج، اثر القای SA باعث افزایش محصول در گندم می شود. تیمار پیش از رشد با SA ، موجب تسریع پروسه های رشد در نهال در طول دوره پس از تنش می گردد. با آنالیز فعالیت میتوزی سلول های مریستم ریشه ای نهال های گندم ٤ تا ٥ روزه آشکار شده است که SA سبب تحریک ریشه زایی می گردد. [۱۵] در مطالعات کشت بافت توسط M.Barbarakiدر سال ۲۰۰۲ دیده شد که آسکوربیک اسید باعث افزایش قابل توجه جذب مواد معدنی پر مصرف (ماکرو المان ها) در گیاه *Viscum album* می گردد. آسکوربیک اسید ممکن است تجمع عناصر پر مصرف را به منظور رشد شدت یافته کالوس پیش ببرد. [۱۸]

Sakhabutidinova و همکارانش در سال ۲۰۰۳ نشان دادند SA یک ترکیب شبه هورمونی است در نتیجه باعث تغییراتی در کالها می شود. این تغییرات با توجه به نوع گیاه و همچنین مقدارSA بکار رفته متفاوت می باشد. تیمار۰/۰۵ میلی مولار سالیسیلیک اسید تقسیم سلولی را در دانه رستهای گیاه گندم افزایش داد و باعث افزایش تقسیم سلولی در مریستم راس ساقه این گیاه و افزایش اکسین (IAA) و آبسیزیک اسید(ABA)گردید. ولی بر مقدار سیتوکینین تاثیری نداشت. [۱۵] همچنین نمو رویانهای بدنی می تواند با افزودن سالیسیلیک اسید برون زا به کشت های رویانی تحریک شود. به علت اینکه سالیسیلیک اسید به عنوان بازدارنده جدید سنتز اتیلن پیشنهاد شده، تاثیر تحریکی آن روی رویان زایی بدنی را می توان به مهار سنتز اتیلن مرتبط دانست. مشاهدات اخیر نشان داده است که سالیسیلیک اسید می تواند سنتز اتیلن را القاء و تحریک کند. بنابراین مسیری که از طریق آن سالیسیلیک اسید رویان زایی بدنی را تحریک می کند هنوز ناشناخته است. [۱۱] Jian –ping و همکاران در سال ۱۹۹۹ افزایش رویان زایی بدنی توسط سالیسیلیک اسید در کالوس محور زیر لپه *Astragalus adsurgens* را گزارش کرده اند. [۱٦] با توجه به اهمیت فراوان دارویی– صنعتی گیاه اوکالیپتوس بهینه سازی شرایط کشت در شیشه آن، با بهره گیری از سالیسیلیک اسید به عنوان یک آنتی اکسیدان و نیز بررسی امکان جایگزین این اسید با برخی تنظیم کننده های رشد گیاهی (هورمونها) از اهداف پژوهش حاضر می باشد.

مواد و روشها

بذرهای گیاهان اوکالیپتوس از پایه های شناسائی شده گونه *E.polyanthemos* از پارک شهر قم(میدان دور شهر) جمع آوری شدند. سترون سازی بذرها با استفاده از آب ژاول۵٪ وعبور از اتانول ۷۰٪ انجام شد. این بذرها در محیط کشت پایه MS کشت شدند. پس از رویش بذرها، نمونه ها به شرایط ۱٦ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و دمای۲۵±۲0c در اتاق کشت منتقل شدند. در این شرایط پس از حدود ده روز دانه رستها برای تهیه جدا کشت ها شرایط مناسبی داشتند. از قطعات برگ‌های لپه ای، محور زیر لپه و ریشه ها به عنوان جدا کشت ها استفاده شد. محیط های کشت پایه MS همراه با دو تیمار هورمونی (IBA ٥ mg.l-1 , Kin ٥mg.l-1) به عنوان محیط A و (NAA ٥ mg.l-1 , ۲ip ٥mg.l-1)به عنوان محیط B ، ۲۰ گرم در لیتر ساکاروز و ۹ گرم در لیتر آگار بود. تعدادی از جدا کشت ها در شرایط مشابهی از نظر شرایط محیط کشت و تیمارهای هورمونی همراه با

Archive of SID

www.SID.ir

غلظت های۰/۱ و۰/۲۵ گرم بر لیتر سالیسیلیک اسید(SA) کشت شدند. PH محیط های کشت در ۵/۸ منظم شد. کشت ها برپایه طرح بلوک های تصادفی انجام شد وهر آزمایش سه تکرار همزمان داشت. نتایج با مقایسه میانگین آزمونها (در سطح معنی دار ۰/۹۵) و تست دانکن گزارش شده اند.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از کشت جدا کشتهای برگهای لپه ای:

قطعات برگ های لپه ای پس از حدود یک هفته در محیط های کشت همراه با تیمارهای هورمونی به کار گرفته شده متورم شدند وشروع به کال زایی کردند(شکل۱). بین تیمارهای هورمونی محیط(AوB) از نظر کال زایی تفاوت قابل ملاحظه ای دیده نشد(نمودار ۲). حدود دو هفته پس از کال زایی ، بر سطح کالوسها اندامهای هوایی (نوساقه و برگهای نوپدید) تشکیل شدند(شکل ۲و۳و٤). حدود یک هفته پس از تشکیل اندامهای هوایی، کالوسها شروع به ریشه زایی کردند(شکل ۵) و (نمودار ۱). نکته قابل توجه توان برگزائی زیاد کالوسهای حاصل از جدا کشتهای برگهای لپه ای است، به طوری که حدود دو تا سه هفته از آغاز کشت(حدود دو هفته پس از کال زایی) تقریبا" تمامی سطح کالوسها از برگهای نو پدید پوشیده شده بود(شکل ۳و٤) و (نمودار۳).

شکل ۱- برگهای لپه‌ای در محیط کشت MS در حضور IBA و Kin (۵mg.l-1)

شکل۲- اندام هوایی فراوان بر کالوسهای برگهای لپه‌ای محیط کشت MS در حضورIBAوKin(۵mg.l-1)

شکل۳- ایجاد اندام هوایی از برگهای لپه‌ای در محیط کشت MS درحضور NAA و 2ip (۵mg.l-1)

www.SID.ir

شکل٤- ایجاد اندام هوایی فراوان از برگهای لپه‌ای در محیط کشت MS در حضور NAA و 2ip (٥mg.l-1)

شکل ٥- برگهای لپه‌ای در محیط کشت MS و ایجاد ریشه در حضورIBAوKin(٥mg.l-1)

نتایج حاصل از جدا کشت محور زیر لپه(هیپو کوتیل)

جدا کشتهای محورهای زیر لپه ای در محیط های کشت مشابه با آنچه شرح داده شد پس از حدود یک تا دو هفته کالوسهای مایل به زردی را ایجاد کردند. (شکل٦) ، توان کال زایی در محیط های دارای IBAوKin تا حدی بیش از محیط های دارای NAAو 2ip بود(نمودار۲). پس از حدود یک هفته از کال زایی، اندام زایی از کالوسها شروع شد ، اما بر خلاف کالوسهای حاصل از جدا کشتهای برگ لپه ای، ابتدا ریشه زایی(شکل۷و۸) و حدود یک هفته بعد تشکیل اندامهای هوایی(ساقه و برگهای نوپدید)دیده شد(شکل۹)؛ رشد ریشه و اندامهای هوایی سریع و قابل توجه بود(نمودار۱و۳).

شکل ٦- محور زیر لپه در محیط کشت MS با تیمارهای هورمونی NAA و 2ip (٥mg.l-1)

شکل ۷- محور زیر لپه در محیط کشت MS با تیمارهای هورمونی IBA وKin(٥mg.l-1)

www.SID.ir

شکل ۸- ایجاد اندام هوایی (ساقه و برگ) از محور زیر لپه در محیط کشت MS با تیمارهای هورمونی NAA و 2ip (۵mg.l-1)

شکل ۹- ایجاد اندام هوایی (ساقه و برگ) از محور زیر لپه در محیط کشت MS با تیمارهای هورمونیNAA و 2ip (۵mg.l-1) (بزرگ نمایی بیشتر)

نتایج حاصل از جدا کشتهای ریشه ای

تمام کشتهای ریشه ای در محیط های کشت متفاوت به کار گرفته شده پس از حدود یک هفته به تدریج قهوه ای و سپس تیره شدند، و از بین رفتند و هیچیک کال زایی یا اندام زایی نداشتند.

د- نتایج حاصل از افزودن سالیسیلیک اسید به محیط های کشت:

جدا کشتهای برگهای لپه ای در محیط کشت پایه MS غنی شده با ۲۰ گرم برلیتر ساکاروز و جامد شده به کمک ۹ گرم بر لیتر آگار، همراه با تیمارهای هورمونی به کار گرفته شده و غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر SA پس از حدود یک تا دو هفته کال زایی (نمودار۲)، پس از حدود دو هفته ریشه زایی و پس از حدود ۲۰ روز از آغاز کشت شروع به تشکیل اندامهای هوایی کردند. توان ریشه زایی در محیط دارای ۰/۱ گرم بر لیتر SA زیاد و ریشه ها رشد طولی، قطری و قدرت انشعاب دهی قابل توجهی داشتند(شکل ۱۰و۱۱). تیمار۰/۲۵ گرم برلیترSA با تنش زیاد موجب قهوه ای شدن و از بین رفتن نمونه ها حتی پس از اندام زایی شد(شکل۱۲) و (نمودار۱ و ۳).

Archive of SID

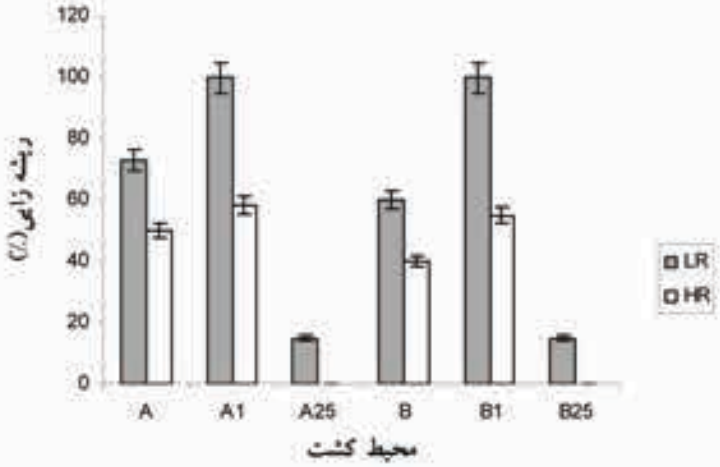
www.SID.ir

شکل ۱۲- برگهای لپه ای با (۰/۲۵g.l-1) SA در محیط کشت MS با تیمارهای هورمونی IBA وKin(۵mg.l-1)

شکل ۱۱- ریشه زایی و ایجاد اندام هوایی از برگهای لپه ای با (۰/۱g.l-1) SA با تیمارهای هورمونی NAA و 2ip (۵mg.l-1)

شکل ۱۰- ریشه زایی و ایجاد اندام هوایی از برگهای لپه ای با (g.l-۰/۱1) SA تیمارها هورمونی IBA وKin(۵mg.l-1)

www.SID.ir



نمودار ۱- اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید در محیط کشت MS بر ریشه زایی

A : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1

A1 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

A25 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

B : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1

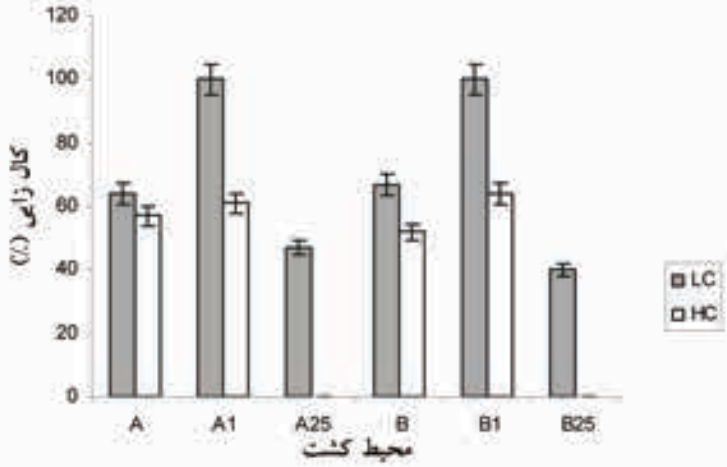
B1 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

B25 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

LR : ریشه زایی برگ لپه ای

HR : ریشه زایی محور زیر لپه ای

www.SID.ir



نمودار ۲- اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید در محیط کشت MS بر کال زایی

A : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1

A1 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

A25 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

B : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1

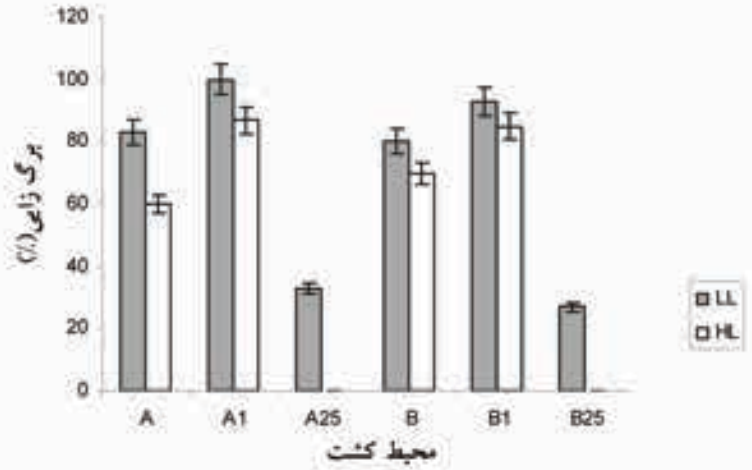
B1 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

B25 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

LC : کال زایی برگ لپه ای

HC : کال زایی محور زیر لپه ای

www.SID.ir



نمودار ۳- اثر غلظت های مختلف سالیسیلیک اسید در محیط کشت MS بر برگ زایی

A : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1

A1 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

A25 : محیط MS حاوی IBA ۵ mg.l-1 و Kin ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

B : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1

B1 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۱ mg.l-1

B25 : محیط MS حاوی NAA ۵ mg.l-1 , ۲ip ۵mg.l-1 و SA ۰/۲۵ mg.l-1

LL : برگ زایی برگ لپه ای

HL : برگ زایی محور زیر لپه ای

www.SID.ir

جدا کشتها محورهای زیر لپه ای در محیط های کشت مشابه ودر غلظت ۰/۱ گرم بر لیترSA کال زایی و ریشه زایی ضعیفی داشتندو در غلظت ۰/۲۵ گرم بر لیتر SA همانند تمامی جدا کشتها ریشه ای قهوه ای شدند واز بین رفتند.

گیاهچه های حاصل از کشت های در شیشه را پس از خارج کردن از محیط های کشت و حذف محیط کشت با شستشوی آرام به مخلوطی از ورمی کولیت استریل مرطوب درون بطری های سربسته کشت بافتی و یا زیر پوشش پلاستیکی منفذ دار انتقال دادیم و پس از سازگار شدن تدریجی با شرایط خاک به گلدانها منتقل کردیم(شکل۱۳) در این مراحل نیز پایداری و شادابی گیاهان تیمار شده با غلظت های۰/۱ گرم بر لیتر SA مناسبتر بود.

شکل ۱۳- گیاهچه های حاصل از کشت در شیشه پس از انتقال به خاک (گلدان)

Archive of SID

www.SID.ir

نتیجه‌گیری

ریز ازدیادی گونه های جنس اوکالیپتوس به دلیل اهمیت دارویی و صنعتی این گیاهان در دو دهه اخیر مورد توجه پژوهشگران بوده ونتایج امید بخشی را به همراه داشته است. همان گونه که در بخش نتایج شرح داده شد یکی از عوامل موثر بر ریز ازدیادی، نوع جدا کشت است. در پژوهش حاضر جدا کشتهای حاصل از قطعات برگهای لپه ای در تمامی محیط های کشت و شرایط آزمایشی به کار گرفته شده توان کال زایی و اندام زایی بهتری را از جدا کشت های ریشه ای و محور زیر لپه ای نشان دادند. این نتایج با گزارشهای Lakshmisita در سال ۱۹۷۹ که جدا کشتهای برگهای لپه ای را نسبت به جدا کشتهای برگی وریشه ای برای گونه *E.citridora* مناسبتر اعلام کرده اند همسویی دارد. [۱۹] القای اندامهای هوایی نوپدید از جدا کشتهای گیاهان اوکالیپتوس مورد توجه پژو هشگران بوده است. از جمله LE-Roux در سال ۱۹۹۱ ، تشکیل نوساقه را از جدا کشتهای گرهی *E.macrthurii* در محیط کشت MS همراه با ۰/۱ میلی گرم در لیتر BA گزارش کرده اند. [۲۰] تیمارهای هورمونی به کار گرفته شده در پژوهش حاضر که توانسته اند علاوه بر نو ساقه ها موجب تشکیل برگهای نوپدید حتی از جدا کشتهای محور زیر لپه ای گردد، می تواند نشانه ای از نیاز بیشتر جدا کشتها به تنظیم کننده های رشد و نمو گیاهی در ریز ازدیادی اوکالیپتوس بوده یا ناشی از نیاز متفاوت گونه های مختلف باشد. LE-Roux در سال ۱۹۹۱ با به کار گیری NAA به میزان ۰/۱ میلی گرم بر لیتر همراه با BA (۰/۲ میلی گرم بر لیتر) یعنی تقویت هورمونی محیط های کشت موفق به تشکیل ساقه ها و برگهای نوپدید شد و با افزودن IBA (۲ میلی گرم بر لیتر) موفق به ریشه زایی از جدا کشتهای *E.macrthurii* گردید.[۲۰] این نتایج با این دید که جدا کشتهای اوکالیپتوس برای اندام زایی به تنوع هورمونی نیاز دارند و با نتایج حاصل از پژو هش حاضر همسویی دارد. مجد و حیدری نیز در سال ۱۳۷۵ با به کارگیری توام NAA و کینیتین موفق به اندام زایی(ساقه زایی همراه با ریشه زایی) در *E.camaldulensis* شدند. این محققان برای طویل شدن ساقه ها از GA3 و برای تقویت ریشه زایی از IBA استفاده کردند. [۲۱] در این پژوهش حاضر با به کار گیری مقدار اکسین و سیتوکینین برای رشد ساقه ها ویا تقویت ریشه زایی به ترتیب نیازی به GA3 یا استفاده ازIBA نبود. در مجموع شرایط به کار گرفته شده در پژوهش حاضر می تواند نوعی بهینه سازی شرایط ریز ازدیادی گیاهان اوکالیپتوس برای گونه*E.polyanthemos* باشد.

بهینه سازی شرایط ریز ازدیادی گیاهان اوکالیپتوس با استفاده از تغییراتPH محیط های کشت توسط پژوهشگران از جمله Chang در سال ۱۹۹۲ مورد توجه قرار گرفته است. این تحقیق PH اسیدی ۳/۵ تا ٤/۵ را برای ریشه زایی جدا کشتهای *E.radata* مناسب دانسته است. [۲۲] مجد و حیدری نیز در سال ۱۳۷۵، PH اسیدی۵/۵ تا ۵/۸ را برای کال زایی و اندام زایی *E.camaldulensis* مناسب گزارش کرده اند.[۲۱] این نتایج در مجموع مناسب بودن PH اسیدی را برای ریز ازدیادی گونه های متفاوت جنس اوکالیپتوس نشان می دهند که با نتایج آزمایشهای ما بر روی *E.polyanthemos* (استفاده از۵/۸= PH) همسویی دارد. اثرات مثبت SA که در آزمایشهای حاضر به ویژه در القای ریشه زایی دیده شد می تواند به اسیدی بودن این ترکیب ارتباط داشته باشد. استفاده از آنتی اکسیدانها و حتی پیشنهاد جایگزینی آنها با برخی از هورمونهای گیاهی در سالهای اخیر مورد توجه بوده است .[۲۳-۲۵] Maksimov در سال ۲۰۰٤ یکی از ساز وکارهای دفاعی یا حفاظتی SA را در محیطinvitro و

Archive of SID

www.SID.ir

invivo ایجاد تعادل هورمونی در سلول های گیاهی دانسته و معتقد است که SA با تاثیر بر بیوسنتز هورمونها، نسبت آنها را نیز تغییر می دهد[۲٦] و همچنین در پژوهش های در سال ۱۳۸٤ مجد و مداح نشان دادند، SA یک ترکیب با رفتار شبه هورمونی است، غلظت های متفاوت آن بر کال زایی ورشد کال ها اثر متفاوت می گذارد، غلظت های ۱۰۰و ۱۵۰ میکرو مولار آن در جدا کشت های نخود موجب تقویت اندام زایی می شودو غلظت ۱۵۰ میکرو مولار آن بویژه در القای ریشه زایی نقش قابل توجهی دارد. SA با تاثیر بر بیو سنتزهورمونها ، نسبت آنها را نیز تغییر می دهدو در نتیجه در غلظت های مختلفSA رشد کال ها نیز متفاوت می باشد.[۲۷] در پژوهشی دیگر در سال۱۳۷۵ نژاد ستاری و خسروی نشان دادند که ، غلظت های پایین SA بر تعداد کالوسهای کیوی و اندازه آنها تاثیر مثبت داشته اما غلظت زیاد آن mg.l-1 ۱۵۰-۱۰۰-۵۰ مانع القای کالوس زایی در محیط کشت می گردد. [۲۸]

Maksimov در سال ۲۰۰٤ نظر داد که احتمالا" تاثیر مثبت غلظت های پایین SA بر القای کالوسها به ارتباط آن با سنتز اکسین در کالوسها وابسته است. در غلظت های پایین، SA موجب افزایش سنتز اکسین می گردد و از این راه سبب رشد کالوسها می شود. [۲٦] تغییر قابل توجهی را که ما نیز در آزمایشهای پژوهش حاضر شاهد بودیم وبه ویژه نقش قابل توجه SA در القای ریشه زایی و تولید برگهای فراوان در کالوسهای اوکالیپتوس رفتار شبه هورمونی این ترکیب را تائید می نماید. به نظر می رسد SA در غلظت های مناسب، هم از نظر پایدار کردن PH اسیدی، هم به عنوان یک آنتی اکسیدان وهم به عنوان یک القا کننده طبیعی اندام زایی می تواند در کشت شیشه مورد استفاده قرار گیرد، اما در غلظت های زیاد آن به احتمال با ایجاد اختلالات متابولیکی می تواند تنش زا و زیان آور باشد.

با توجه به مجموع نتایج پژوهش حاضر می توان جدا کشتهای حاصل از قطعات برگهای لپه ای، PH اسیدی حدود ۵ تا ۵/۸، استفاده توام و به میزان مساوی اکسین(IBAوNAA) و سیتوکینین ها(Kinو2pi) و استفاده از غلظت های پایین(کم) سالیسیلیک اسید mg.l-1 ۰/۱ را از شرایط مناسب و بهینه برای ریز ازدیادی گونه *E.polyanthemos* در نظر گرفت. گیاهچه های حاصل از کشتهای در شیشه پس از خارج کردن از محیط های کشت و حذف محیط کشت با شستشوی آرام به مخلوطی از ورمی کولیت استریل مرطوب و زیر پوشش پلاستیکی منفذ دار انتقال یافته و پس از سازگار شدن تدریجی با شرایط خاک به گلدانها منتقل شدند بر اساس نتایج ما در این مراحل نیز پایداری و شادابی گیاهان تیمار شده با غلظت ۰/۱ گرم بر لیتر SA مناسبتر بود.

Mpaula watt و همکاران در سال ۲۰۰۳ برای انتقال جدا کشتهای *E.grandis* از ورمی کولیت استریل مرطوب درون بطری های سر بسته کشت بافتی و هم از پوشش پلاستیکی استفاده کردند. نتایج نشان داد که ذخیره سازی در ورمی کولیت استریل درون بطری ها در مقایسه با پوشش پلاستیکی بسیار بهتر است.[۲۹]

Archive of SID

www.SID.ir

References:

1. Mehra-patta, A., *plant Sci. Let*., **26**, 1 (1982).
2. Takasaki, M., Konoshima, T., Etoh, H., *Cancer Letters*, **155**, 61 (2000).
3. Adeblo, O., Olusegun, E., Olayide, N., *Fitoterapia*, **70**, 526 (1999).
4. Siddiqui, B., Sultana, I., *phytochemistry*, **54**, 861 (2000).
5. Pattnaik, S., Subramanyam,V.R., Kole, C., *Plant science*, **89** , 237 (1996).
6. Osawa, S., Yasuda, H., Morita, H., Takeya, K., and Itokowa, H., *J. Nat prod*, **59**, 823 (1995).
7. Brown, J.S., Marcy, S.A., *Nurs health*, **14**, 339 (1991).
8. Yamakoshi, V., Murata, M., Shimizu, A., Homma, S., *Biosci Biotech*, **56**, 1570 (1992).
9. Ghisalberti, E., Bioactive, L., *phytochemistry*, **41**, 7 (1996).
10. Ikawati, Z., wahyuono, S., and Meayama, K.J., *Ethnopharma col*. , **75**, 249 (2001).
11. Jian –ping , L., Shao-Tong, J., Sun pan, L., *plant science*, **161**, 125 (2001).
12. Avandhi, S., Ramanujam, M.P., *Indian J. Plant physiol*, **2**, 138 (1997).
13. Kumar, R.,.Chakrabarti, D.k., *Indian J. Agric. Sci.*, **67**, 130 (1997).
14. Singh, V.K., Saini, J.P., Misra, A.K., *Indian Hort*, **58**, 196 (2001).
15. Sakhabutdinova, A.R., Fatkhutdinova, D.R., Bezrukova, M.V., *J. Plant Physiology*, **31**, 314(2003).
16. Jian –ping , Luo., J.F. Jia., Y.H. Gu., J. Liu., *plant science*, **143**, 93 (1999).
17. Senaratna, T., *Plant growth Reg*, **15**, 161(2000).
18. Barberaki, M., Kintzios, S., *Scientia Horticulturae*, **95**, 133 (2002).
19. Lakashmisita, G., *plant science Letters*, **14**, 63 (1979) .
20. Le Roux, J., Van –Staden., J.,*Hortscience* , **26**, 199 (1991).
21. Heydari, M., *M.S thesis: Tissue calture of Eucalyptus camaldulensis*, Terabit Moalem University, Iran (1997)
22. Chang, S.H., Donald, D.G.M., Jacobs, G., S*outh Africa forestry sournal*, **162**, 43 (1992).
23. Gonzalez-Reyes, J.A., Cordoba-Pedregosa, M.C., Cordoba, F., Villaba, J.M., *Plant physiology*, **131**, 697 (2003).
24. Bokai, Z., *Ph.D thesis: Studies of ascorbic acid in ontogeny of apical meristem and function of Vicia faba L.*, research & science campus, Islamic Azad University, Iran (2003).
25. Ramazani, A., *Ph.D thesis: Comparative studies of ascorbic acid on growth, development and change in anatomical structure, ontogeny of Aloe vera L. in natural plants and samples of tissue calture and studies antimicrobial effects* , Terabit Moalem University, Tehran, Iran (2005).
26. Maksimove, A., *Russian journal of plant physiology*, **48**, 480 (2004)
27. Madah, M., *Ph.D thesis: Studies of Salicylic acid on growth, development and change in ontogeny of Cicer arietinum L*, research & science campus, Islamic Azad University, Iran (2005).
28. Khosravi, E., *M.S thesis: Studies of Salicylic acid on change in ontogeny of tissue calture Actinidia chinensis L*, research & science campus, Islamic Azad University, Tehran, Iran (2006).
29. Paula Watt, M., Berjak, P., Makhathini, A., Blakeway, F., *Plant cell Tissue and organ culture*, **75**, 233 (2003).

Archive of SID

www.SID.ir