Archive of SID

نشریه علمی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران
جلد ۲۷ شماره ۲، صفحه ۱۶۸-۱۵۹، (۱۳۹۸)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijfpr.2019.120122
شناسه دیجیتال (DOR): 98.1000/1735-0883.1398.27.159.76.2.1575.1606

اثر پرووِنانس و محیط کشت بر جوانه‌زنی بذر ون (*Fraxinus excelsior* L.) در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای جنین

حمیدرضا اسلامی رستمی [۱]، سیدمحمد حسینی نصر [۲]، سیدکمال کاظمی‌تبار [۳*] و فائزه زعفریان [۴]

۱- دانشجوی دکتری، گروه جنگل‌داری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۲- دانشیار، گروه جنگل‌داری، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

۳*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران. پست الکترونیک: sdklkr@ymail.com

۴- دانشیار، گروه زراعت، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۲/۱۷

چکیده

ون (*Fraxinus excelsior* L.) یکی از گونه‌های جنگلی با بذر سخت همراه با خواب سنگین است که جوانه‌زنی آن به‌سختی انجام می‌شود. در پژوهش پیش‌رو، با هدف تسهیل جوانه‌زنی بذر ون، رویانیدن بذر با استفاده از کشت درون‌شیشه‌ای جنین انجام شد. بذرهای تهیه‌شده از چهار منطقه کلاردشت و الندان کیاسر (استان مازندران) و علی‌آباد و گالیکش (استان گلستان) پس از ضدعفونی با الکل ۷۰ درصد، با استفاده از اسکالپل استریل از محل نوک شکافته و جنین‌ها بدون هیچ‌گونه آسیبی خارج شدند. جنین‌ها پیش از انتقال به محیط کشت به‌مدت یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد خوابانده شدند. سپس، سه‌بار با آب مقطر سترون زیر هود لامینار شستشو شدند. درنهایت، در محیط کشت‌های Monier، WPM و MS در سه تکرار (پتری‌دیش و داخل هر پتری، پنج عدد جنین) قرار گرفتند. تمام شاخص‌های مورد بررسی در چهار منطقه جغرافیایی برای محیط MS به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو محیط کشت دیگر بودند و کمترین مقدار در محیط کشت Monier مشاهده شد. در بین چهار منطقه، الندان و گالیکش، بیشترین شاخص‌ها را داشتند و کمترین مقدار نیز در علی‌آباد به‌دست آمد. تمام شاخص‌ها، همبستگی معنی‌دار مثبت و قابل توجهی با یکدیگر نشان دادند. به‌طور کلی، می‌توان بیان کرد که محیط کشت MS برای تکثیر درون‌شیشه‌ای جنین درخت ون مناسب‌تر است.

واژه‌های کلیدی: جنگل‌های هیرکانی، رویشگاه، محیط کشت Monier، محیط کشت MS، محیط کشت WPM.

مقدمه

ون (*Fraxinus excelsior* L.) یکی از باارزش‌ترین گونه‌های صنعتی جنگل‌های هیرکانی است که نزدیک به ۰/۳ درصد حجم سرپای این جنگل‌ها را تشکیل می‌دهد (Espahbodi & Khorankeh, 2013). این گونه از جلگه تا ارتفاعات فوقانی و از منتهی‌الیه غربی تا حد شرقی جنگل‌های کرانه دریای خزر در استان گلستان انتشار دارد و به‌خوبی اقلیم‌های نیمه‌مرطوب تا خیلی مرطوب با زمستان‌های معتدل تا خیلی سرد را تحمل می‌کند (Omidbeigi, 2005)، اما به‌علت تغییرات اقلیمی و افزایش دمای هوا، بهره‌برداری بی‌رویه و حضور دام در عرصه‌های جنگلی، زادآوری طبیعی آن دچار مشکلات

www.SID.ir

Archive of SID

فراوانی شده است (Mojarrabi, 2009). به‌همین دلیل، کاشت نهال‌های آن در جنگل‌کاری‌ها می‌تواند راهکار مناسبی برای احیای این گونه ارزشمند باشد. باتوجه‌به خفتگی درونی بذر ون، گام نخست در تولید نهال این گونه یافتن راهی برای غلبه بر خفتگی بذر است. همچنین، به‌دلیل نیاز به بافت گیاهی سالم برای انجام آزمایش‌های درون‌شیشه‌ای، یافتن روش مناسب برای تولید نهال این گونه در محیط آزمایشگاهی نیز اهمیت زیادی دارد (Mojarrabi, 2009).

پژوهشگران، جنین‌های نارس ون را که از درختان ۳۰ ساله گرفته شده بودند، کشت دادند و دریافتند که جوانه‌زنی جنین نارس، بسیار مشکل است (Huijun & Fengxia, 2003). براساس پژوهشی دیگر، نونهال‌های به‌دست آمده از کشت جنین نارس در محیط کشت WPM رشد مناسبی داشتند و ارتفاع آن‌ها در مقایسه با محیط‌های کشت دیگر، بیشتر بود (Van Sambeek & Preece, 2007). در پژوهش مذکور، جوانه‌زنی کمی درنتیجه کشت جنین گیاه ون در محیط کشت WPM با یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین گزارش شد. همچنین، درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌های کشت‌شده در محیط‌های کشت QL و WPM به‌ترتیب ۶۶ و ۶۰ درصد بود. تأثیر برخی از فیتوهورمون‌ها بر کالوس‌زایی، رویان‌زایی، ساقه‌زایی، ریشه‌زایی و تشکیل کلروفیل در ریشه گیاه ون با استفاده از محیط کشت MS و B_5 در پژوهش دیگری بررسی شد (Wagner & Kafka, 1995). در این پژوهش، پاسخ رشدی جنین‌های ون در مراحل مختلف بلوغ و خفتگی در ترکیب‌های مختلف محیط کشت با آگار (محیط کشت MS با عناصر پرمصرف، محیط کشت با عناصر کم‌مصرف همراه با آگار، ساکارز و اسیدجیبرلیک برای کشت جنین) بررسی شد. تفاوت‌ها در واکنش به محیط‌های کشت مختلف در مراحل اولیه رشد، بیشتر مشخص بود، اما در مرحله بلوغ جنین، این تفاوت‌ها ناچیز بودند. هدف از پژوهش پیش‌رو، بررسی اثر پرووانانس بذر رویشگاه‌های مختلف و محیط‌های کشت بر رشد جنین و تولید نهال ون بود.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر از درختان ۳۰ تا ۴۰ ساله در چهار رویشگاه ون در جنگل‌های چهار حوزه آبخیز به‌شرح زیر که در جهت شمالی و دامنه ارتفاعی ۱۰۰۰ تا ۱۸۰۰ متر از سطح دریا قرار داشتند، انجام شد:

– حوزه آبخیز ۹۴ (قطعه ۴۳۷ سری لوه بخش لوه طرح جنگل‌داری لوه، حوزه اداره کل منابع طبیعی استان گلستان)

– حوزه آبخیز ۸۸ (قطعه ۲۰۷ سری سرخداری طرح جنگل‌داری سرخدار علی‌آباد، حوزه اداره کل منابع طبیعی گلستان)

– حوزه آبخیز ۷۰ (قطعه ۲۳۷ سری الندان طرح جنگل‌داری سری‌های ۱۶ گانه، حوزه اداره کل منابع طبیعی مازندران– ساری)

– حوزه آبخیز ۳۶ (قطعه ۱۳۴ طرح جنگل‌داری کلاردشت، حوزه اداره کل منابع طبیعی مازندران– نوشهر)

برای کشت جنین، بذرهای نارس تهیه‌شده به‌مدت ۳۰ دقیقه با آب جاری شسته شدند. سپس این بذرها در زیر هود لامینار، سه‌بار با آب مقطر سترون‌شده آبکشی شدند. برای تعیین قوه نامیه، بذرها در محلول تترازولیوم قرار داده شدند. همه بذرها جوانه زدند و قوه نامیه بیشتر از ۹۸ درصد به‌دست آمد. در ادامه، بذرها با الکل ۷۰ درصد و به‌مدت یک دقیقه شسته شدند و در محلول هیپوکلریت‌سدیم یک درصد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند. با قرار گرفتن بذرها در این محلول، رنگ سطحی بذرها از بین رفت و جنین‌ها با چشم غیرمسلح قابل‌رؤیت شدند (شکل ۱).

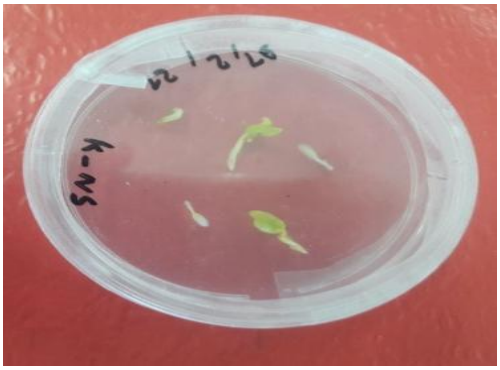
بذرها در زیر هود لامینار از محلول خارج شدند. سپس پنج بار با آب مقطر سترون شسته شدند و به‌مدت ۳۰ دقیقه در آب نگهداری شدند. پس از آن، بذرها روی کاغذهای صافی استریل قرار گرفتند و با استفاده از اسکالپل استریل به‌دقت از قسمت نوک شکافته شدند. در مرحله بعد، جنین با

www.SID.ir

Archive of SID

فشار کم در قسمت پایین بذر از پوسته خارج شد. جنین‌ها یک دقیقه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور شدند و سپس سه‌بار با آب مقطر سترون شسته شدند. جنین‌های شسته‌شده روی کاغذ صافی استریل منتقل شدند. سپس از هر منطقه، پنج بذر در محیط کشت MS، WPM و Monier قرار داده شد. کشت جنین‌ها در محیط‌های کشت در سه تکرار انجام شد که درمجموع ۱۵ بذر از هر منطقه (۶۰ بذر در چهار منطقه) کشت شد. پتری‌دیش‌های حاوی جنین در اتاقک رشد با ۱۶ ساعت روشنایی، هشت ساعت تاریکی و دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شدند. پنج روز پس از کشت، جنین‌ها سبز شدند (شکل ۲). سپس جنین‌ها به شیشه‌های حاوی همان محیط کشت‌ها انتقال داده شدند تا امکان رشد طولی گیاهچه‌ها مهیا شود (شکل ۳- الف، ب، ج، د).

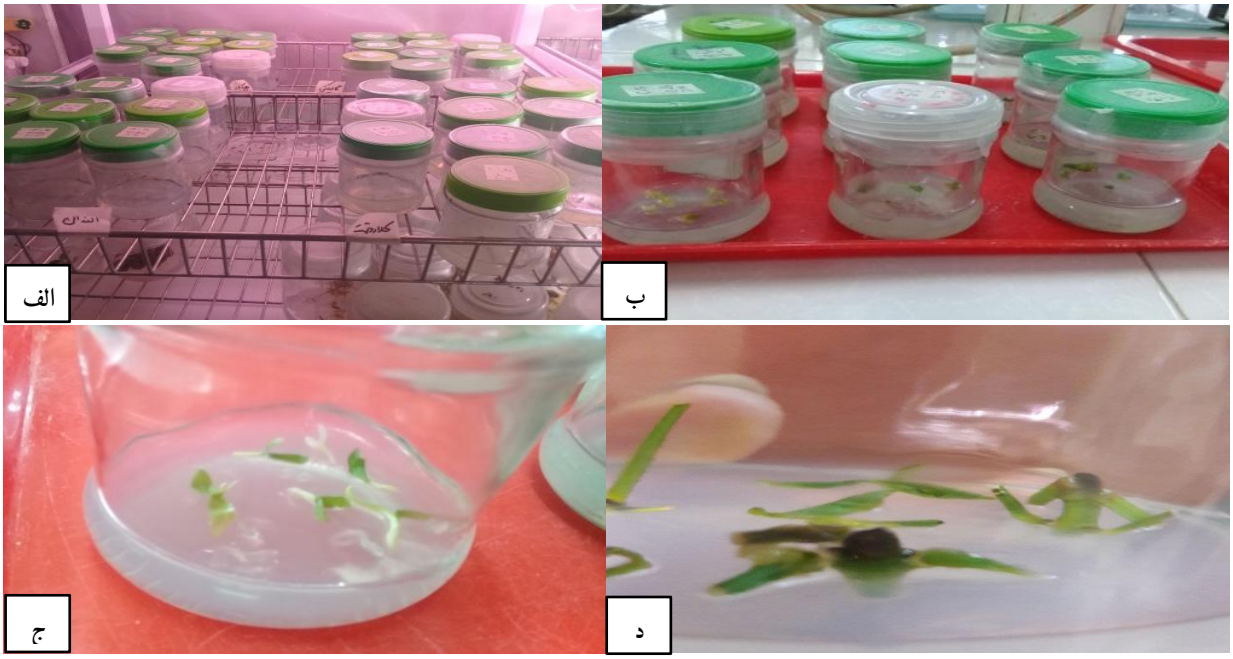
شکل ۱- نمایان شدن جنین بذرها پس از قرار گرفتن در محلول هیپوکلریت‌سدیم یک درصد



شکل ۲- جنین‌های سبزشده در محیط کشت

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۳- جنین‌های منتقل‌شده از پتری‌دیش‌ها به شیشه‌های حاوی محیط کشت (الف)، یک هفته پس از انتقال جنین‌ها از پتری‌دیش‌ها به شیشه‌های حاوی محیط کشت (ب)، ده روز پس از انتقال جنین‌های سبزشده به درون شیشه حاوی محیط کشت (ج) و یک ماه پس از انتقال جنین‌های سبزشده به درون شیشه حاوی محیط کشت (د)

شاخص‌های رشد طولی ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه (برحسب میلی‌متر) اندازه‌گیری شدند و برای محاسبه درصد و سرعت جوانه‌زنی از شاخص طولی و وزنی ویگور (رابطه‌های ۱ تا ۴) استفاده شد (ISTA, 1996):

رابطه (۱) درصد جوانه‌زنی = (تعداد جنین جوانه‌زده تا روز پنجم / تعداد کل جنین) ×۱۰۰

رابطه (۲)
$$GR = \sum \frac{Ni}{Ti}$$

که در آن: GR سرعت جوانه‌زنی و $\sum Ni$ و $\sum Ti$ به‌ترتیب مجموع کل جنین جوانه‌زده تا پایان آزمایش و مجموع زمان برحسب روز از شروع آزمایش تجزیه‌وتحلیل هستند.

رابطه (۳) شاخص طولی ویگور = طول گیاهچه (میلی‌متر) × درصد جوانه‌زنی

رابطه (۴) شاخص وزنی ویگور = وزن خشک گیاهچه (گرم) × درصد جوانه‌زنی

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها برمبنای آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در نرم‌افزار آماری SAS انجام شد که شامل روابط رگرسیونی، همبستگی و تجزیه واریانس بود. تشخیص نرمال بودن داده‌ها توسط آزمون کولموگروف- سمیرنف و همگنی واریانس با استفاده از آزمون لیون در نرم‌افزار SPSS انجام

www.SID.ir

Archive of SID

شد. مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) توسط نرم‌افزار SAS انجام شد.

نتایج

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین شاخص‌ها

تجزیه واریانس شاخص‌های مورد بررسی نشان داد که شاخص‌های تعداد گیاهچه سبزشده، طول محور بالای لپه و محور زیر لپه، وزن تر ساقه‌چه، درصد و سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی ویگور و شاخص وزنی ویگور تحت تأثیر منطقه جغرافیایی و محیط کشت، اختلاف معنی‌داری در سطح اطمینان ۹۹ درصد با هم داشتند (جدول ۱). همچنین، صفات تعداد گیاهچه سبزشده، طول محور بالای لپه، وزن تر ساقه‌چه، درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، شاخص طولی ویگور و شاخص وزنی ویگور تحت اثر متقابل منطقه جغرافیایی و محیط کشت قرار داشتند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهچه ون تحت اثر متقابل منطقه جغرافیایی و محیط کشت

منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد گیاهچه سبزشده	طول محور بالای لپه	طول محور زیر لپه	وزن تر ساقه‌چه	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	شاخص طولی ویگور	شاخص وزنی ویگور
منطقه	۳	۵۰/۱**	۲۳**	۵/۶۷**	۳۴۰۵۴**	۱۸۷۴/۴۱**	۲**	۲۵/۹۵**	۲۵۵۳۳**
محیط کشت	۲	۲۲۳/۸۶**	۲۰۹/۰۳**	۱۸/۸۶**	۱۵۰۰۶۸**	۹۷۰۷/۸**	۸/۹۵**	۱۳۷/۷۸**	۹۹۱۱۹**
اثر متقابل	۶	۷/۰۵**	۳/۶۹*	۰/۱۹^{ns}	۴۵۸۶**	۹۲۰/۸۸*	۰/۲۸**	۷/۳۷*	۶۳۵۸**
خطا	۲۴	۰/۸۹	۱/۵	۰/۳۳	۴۵۷	۱۵۰/۵	۰/۰۴	۲/۶۸	۱۵۱۸
CV (%)	–	۱۵/۲۲	۱۸/۲۲	۲۸/۰۸	۱۳/۰۵	۳۰/۸۳	۱۵/۲۲	۱۴/۲۵	۱۴/۷۷

** معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ * معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد؛ ^{ns} غیرمعنی‌دار

مقایسه میانگین اثر ساده منطقه جغرافیایی نشان داد که تعداد گیاهچه سبزشده در الندان و گالیکش به‌طور معنی‌داری بیشتر از کلاردشت و علی‌آباد بود. در علی‌آباد، کمترین تعداد گیاهچه سبزشده مشاهده شد (جدول ۲). همچنین، طول محور بالای لپه و محور زیر لپه در گالیکش بیشترین مقدار و در علی‌آباد کمترین (به‌ترتیب ۸/۲۲ و ۲/۸۹ میلی‌متر برای طول ساقه‌چه و ۴/۵۶ و یک میلی‌متر برای طول ریشه‌چه) بود. بیشترین وزن تر ساقه‌چه در گالیکش (۲۱۴/۳۳ گرم) و الندان (۲۰۳/۶۷ گرم) و کمترین آن در علی‌آباد (۷۹/۱۱ گرم) به‌دست آمد. براساس نتایج، کمترین درصد جوانه‌زنی در علی‌آباد (۱۹/۲۶ درصد) و بیشترین درصد جوانه‌زنی در سه منطقه دیگر مشاهده شد که در یک گروه قرار گرفتند. همچنین، کمترین سرعت جوانه‌زنی در علی‌آباد (۰/۵۸) و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در گالیکش (۱/۶ درصد) و الندان (۱/۵۶ درصد) اندازه‌گیری شد. به‌همین دلیل، کمترین شاخص طولی (۱/۱۸) و وزنی ویگور (۲۳/۳۹) در علی‌آباد، بیشترین شاخص طولی ویگور در الندان و نیز حداکثر شاخص وزنی ویگور در الندان و گالیکش به‌دست آمد (جدول ۲).

مقایسه میانگین شاخص‌ها در محیط کشت نشان داد که تمام شاخص‌های مورد بررسی در محیط کشت MS به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو محیط کشت WPM و Monier بودند. محیط کشت WPM در رتبه دوم قرار گرفت و محیط کشت Monier کمترین مقادیر این شاخص‌ها را نشان داد (جدول ۲). درصد جوانه‌زنی در محیط کشت MS، ۵۶/۶۷ درصد بیشتر از محیط کشت Monier و حدود ۲۳/۹۵ درصد بیشتر از محیط کشت WPM بود. همچنین، سرعت جوانه‌زنی در محیط کشت MS به‌ترتیب ۰/۵۸ و ۱/۷ درصد بیشتر از محیط کشت WPM و Monier به‌دست آمد (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ساده منطقه جغرافیایی و محیط کشت بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهچه ون

تیمار	تعداد گیاهچه سبزشده	طول محور بالای لپه (میلی‌متر)	طول محور زیر لپه (میلی‌متر)	وزن تر ساقه‌چه (گرم)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (درصد)	شاخص طولی ویگور	شاخص وزنی ویگور
منطقه جغرافیایی								
کلاردشت	۶/۱۱ b	۶/۵۶ b	۲/۳۳ ab	۱۵۷/۷۸ b	۴۰/۷۴ a	۱/۲۲ b	۳/۵۵ a	۸۷/۴۱ b
الندان کیاسر	۷/۷۸ a	۷/۵۶ ab	۲ b	۲۰۳/۶۷ a	۵۱/۸۵ a	۱/۵۶ a	۵/۰۸ a	۱۳۸/۱۲ a
علی‌آباد کتول	۲/۸۹ c	۴/۵۶ c	۱ c	۷۹/۱۱ c	۱۹/۲۶ b	۰/۵۸ c	۱/۱۸ b	۲۳/۳۹ c
گالیکش	۸ a	۸/۲۲ a	۲/۸۹ a	۲۱۴/۳۳ a	۴۷/۳۳ a	۱/۶ a	۵ a	۱۳۳/۳ a
LSD 0.05	۰/۹۲	۱/۱۹	۰/۵۶	۲۰/۷۹	۱۱/۹۴	۰/۱۸	۱/۵۹	۳۷/۹
محیط کشت								
MS	۱۰ a	۹/۹۲ a	۳/۲۵ a	۲۶۱/۷۵ a	۶۶/۶۷ a	۲ a	۶/۹۸ a	۱۸۷/۲۳ a
WPM	۷/۰۸ b	۸/۲۵ b	۲/۱۷ b	۱۸۷/۵ b	۴۲/۷۲ b	۱/۴۲ b	۳/۹۲ b	۹۳/۹۷ b
Monier	۱/۵ c	۲ c	۰/۷۵ c	۴۱/۹۲ c	۱۰ c	۰/۳ c	۰/۲۱ c	۵/۴۸ c
LSD 0.05	۰/۷۹	۱/۰۳	۰/۴۹	۱۸/۰۱	۱۰/۳۴	۰/۱۶	۱/۳۸	۳۲/۸۳

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد هستند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل منطقه جغرافیایی و محیط کشت بر شاخص‌های جوانه‌زنی گیاهچه ون

اثر متقابل	تعداد گیاهچه سبزشده	طول محور بالای لپه (میلی‌متر)	طول محور زیر لپه (میلی‌متر)	وزن تر ساقه‌چه (گرم)	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی (درصد)	شاخص طولی ویگور	شاخص وزنی ویگور
L_1M_1	۱۰ ab	۹/۶۷ b	۳/۳۳ ab	۲۶۰/۶۷ b	۶۶/۶۷ ab	۲ ab	۶/۴۷ b	۱۷۴/۹۳ b
L_1M_2	۷ bc	۸/۶۷ b	۲/۶۷ abc	۱۷۸/۶۷ c	۴۶/۶۷ b	۱/۴ bc	۴/۰۷ bc	۸۴/۰۲ d
L_1M_3	۱/۳۳ de	۱/۳۳ e	۱ c	۳۴ e	۸/۸۹ d	۰/۲۷ d	۰/۱۱ e	۳/۲۷ g
L_2M_1	۱۲/۳۳ a	۱۱/۳۳ a	۳/۳۳ ab	۳۱۳/۳۳ a	۸۲/۲۲ a	۲/۴۷ a	۹/۴۲ a	۲۵۸/۹۹ a
L_2M_2	۹ b	۹ b	۲ bc	۲۴۳/۳۳ b	۶۰ ab	۱/۸ b	۵/۵۱ bc	۱۴۷ c
L_2M_3	۲ d	۲/۳۳ d	۰/۶۷ cd	۵۴/۳۳ de	۱۳/۳۳ c	۰/۴ d	۰/۳۱ de	۸/۳۸ f
L_3M_1	۵/۶۷ c	۷ bc	۲ bc	۱۵۴ c	۳۷/۷۸ bc	۱/۱۳ c	۲/۶۷ c	۵۸/۶ e
L_3M_2	۲/۳۳ d	۵ c	۱ c	۶۳ d	۱۵/۵۵ c	۰/۴۷ d	۰/۸ d	۱۰/۲۲ f
L_3M_3	۰/۶۷ e	۱/۶۷ e	۰ d	۲۰/۳۳ f	۴/۴۵ e	۰/۱۳ e	۰/۰۷ f	۱/۳۶ h
L_4M_1	۱۲ a	۱۱/۶۷ a	۴/۳۳ a	۳۱۹ a	۸۰ a	۲/۴ a	۹/۳۶ a	۲۵۶/۳۸ a
L_4M_2	۱۰ ab	۱۰/۳۳ ab	۳ ab	۲۶۵ b	۴۸/۶۷ b	۲ ab	۵/۲۹ bc	۱۳۴/۶۲ c
L_4M_3	۲ d	۲/۶۷ d	۱/۳۳ c	۵۹ de	۱۳/۳۳ c	۴/۴ d	۰/۳۶ de	۸/۹۱ f

حروف مشترک در هر ستون نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد هستند.

L_1، L_2، L_3 و L_4: به‌ترتیب چهار منطقه کلاردشت، الندان کیاسر، علی‌آباد کتول و گالیکش

M_1، M_2 و M_3: به‌ترتیب محیط کشت MS، WPM و Monier

www.SID.ir

Archive of SID

تمام شاخص‌های مورد بررسی در چهار منطقه کلاردشت، الندان، علی‌آباد کتول و گالیکش در محیط MS به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو محیط کشت دیگر بودند و کمترین مقدار در محیط Monier مشاهده شد. در بین چهار منطقه نیز تمام شاخص‌ها در الندان و گالیکش به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو منطقه دیگر بود. کمترین مقادیر این شاخص‌ها در علی‌آباد به‌دست آمد (جدول ۳).

همبستگی بین شاخص‌ها

ارتباط بین صفت‌ها (جدول ۴) نشان داد که تمام شاخص‌ها، رابطه معنی‌دار و مثبتی در سطح اطمینان ۹۹ درصد با یکدیگر داشتند.

جدول ۴- همبستگی شاخص‌های جوانه‌زنی جنین ون

همبستگی	۱	۲	۲	۴	۵	۶	۷	۸
۱- تعداد گیاهچه سبزشده	۱							
۲- طول محور بالای لپه	۰/۹**	۱						
۳- طول محور زیر لپه	۰/۹۵**	۰/۸۷**	۱					
۴- وزن تر ساقه‌چه	۰/۹۹**	۰/۸۹**	۰/۹۵**	۱				
۵- درصد جوانه‌زنی	۰/۹۵**	۰/۸۴**	۰/۹۱**	۰/۹۵**	۱			
۶- سرعت جوانه‌زنی	۰/۹۹**	۰/۹**	۰/۹۵**	۰/۹۹**	۰/۹۵**	۱		
۷- شاخص طولی ویگور	۰/۹۴**	۰/۸۵**	۰/۹۲**	۰/۹۴**	۰/۹۷**	۰/۹۴**	۱	
۸- شاخص وزنی ویگور	۰/۹۴**	۰/۸۴**	۰/۸۹**	۰/۹۴**	۰/۹۷**	۰/۹۴**	۰/۹۹**	۱

** معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد

بحث

نتایج پژوهش پیش‌رو نشان داد که تمام شاخص‌های مورد بررسی در چهار منطقه جغرافیایی کلاردشت، الندان، علی‌آباد کتول و گالیکش در محیط MS به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو محیط کشت دیگر بودند و کمترین مقدار در محیط کشت Monier مشاهده شد. در بین چهار منطقه نیز تمام شاخص‌ها در الندان و گالیکش به‌طور معنی‌داری بیشتر از دو منطقه دیگر بود. کمترین مقدار این شاخص‌ها در علی‌آباد اندازه‌گیری شد. کمترین درصد جوانه‌زنی در علی‌آباد و بیشترین درصد جوانه‌زنی در سه منطقه دیگر مشاهده شد که در یک گروه قرار گرفتند. همچنین، کمترین سرعت جوانه‌زنی در منطقه علی‌آباد و بیشترین سرعت جوانه‌زنی در الندان و گالیکش اندازه‌گیری شد. به‌همین دلیل، کمترین شاخص طولی و وزنی ویگور در علی‌آباد، بیشترین شاخص طولی ویگور در سه منطقه دیگر و همچنین حداکثر شاخص وزنی ویگور در الندان و گالیکش به‌دست آمد.

پژوهش Mojarrabi (۲۰۰۹) نشان داد که بیشترین اثر بر جوانه‌زنی بذر و جنین ون متعلق به تیمار ۲۴ ساعت خیساندن بذر در اسیدجیبرلیک ۵۰۰ قسمت در میلیون، ایجاد برش در حاشیه پوسته بذر و سپس کشت در محیط کشت MS به‌اضافه اسیداسکوربیک، کازیین‌هیدرولیزات و مخمر هریک به مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر و زغال فعال به مقدار پنج گرم در لیتر بود. Korori و همکاران (۲۰۰۲) نیز نتایج مشابهی را با بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی بذر ون در استان‌های گیلان و مازندران گزارش کردند،

www.SID.ir

Archive of SID

به‌طوری‌که برداشت فصلی مختلف (اوایل شهریور، اواخر شهریور، اوایل و اواخر مهرماه) با ۱۵ روز نگهداری در دماهای ۸- و دو درجه سانتیگراد و تیمارهای غذایی آب‌مقطر و آب‌اکسیژنه بهترین نتیجه را نشان داد. Mirabizadeh (۱۹۹۷) نیز گزارش کرد که محیط کشت MS نسبت به محیط کشت B_5 اثر مثبت بیشتری بر کالوس‌زایی، رویان‌زایی، ساقه‌زایی، ریشه‌زایی و تشکیل کلروفیل در ریشه گیاه ون ازطریق کشت بافت دارد. همچنین، کالوس‌های به‌دست آمده از جداکشت‌های ریشه‌ای در محیط MS، بیشترین تعداد گره‌های رویانی (رویان‌زایی) را نشان دادند. در پژوهش Wagner و Kafka (۱۹۹۵) نشان داده شد که پاسخ رشدی جنین‌های ون در واکنش به محیط‌های کشت با آگار (محیط کشت MS با عناصر پرمصرف، محیط کشت با عناصر کم‌مصرف همراه با آگار، ساکارز و اسیدجیبرلیک برای کشت جنین) در مراحل اولیه رشد بیشتر بود، اما در مرحله بلوغ جنین تفاوت‌ها ناچیز بودند که با یافته‌های پژوهش پیش‌رو مطابقت دارد.

در پژوهش Fengxia و Fengxica (۲۰۰۳) نیز با بررسی جنین‌های نارس متعلق به درختان ۳۰ ساله *F. mandshurica* در محیط کشت‌های QL و WPM نتایج مشابهی به‌دست آمد. Desislava و همکاران (۲۰۰۳) با تکثیر درون‌شیشه‌ای ون نتایجی مشابه با Huijun و Fengxia (۲۰۰۳) گزارش کردند. در پژوهش‌های دیگر نیز تکثیر درون‌شیشه‌ای برخی از گونه‌های ون از طریق جنین سوماتیکی (Preece *et al.*, 1989)، تشکیل ساقه جانبی (Navarrete *et al.*, 1989) و تشکیل ریشه‌های نابجا (Stevens & Pijut, 2012)، تشکیل ساقه‌های جانبی *F. excelsior* ازطریق گره و نوک رأسی گیاهان ۱۳ ماه تا ۱۶ ساله (Nougarède *et al.*, 1996)، جوانه ناشی از درختان بارور (Schoenweiss & Meier-Dinkel, 2005)، گره‌های کوتیلدونی (Hammatt & Ridout, 1992) و محور بالای لپه (Mitras *et al.*, 2009)، تشکیل ساقه‌های رأسی و جانبی از محور زیر لپه و محور بالای لپه در *F. americana* (Palla & Pijut, 2011) و *F. excelsior* (Hammatt & Ridout, 1992) گزارش شده است.

درمجموع، باتوجه‌به نتایج این پژوهش می‌توان بیان کرد که محیط کشت MS برای تکثیر درون‌شیشه‌ای جنین ون مناسب‌تر است. همچنین، می‌توان از بذرهای مناطق النداں و گالیکش برای این منظور استفاده کرد.

منابع مورد استفاده

- Desislava, D., Iliev, N. and Iliev, I., 2013. *In vitro* propagation of *Fraxinus excelsior* L. Muzeul Olteniei Craiova. Oltenia. Studi Si Comunicari Stiinetele Naturii, 29(1): 78-84.
- Espahbodi, K. and Khorankeh, S., 2013. Effect of planting date and seedling cover on seed germination of mountain ash (*Fraxinus excelsior* L.) and decrease of spring late cold damage. Iranian Journal of Forests and Poplar Research, 21(1): 126-141 (In Persian).
- Hammatt, N. and Ridout, M.S., 1992. Micro-propagation of common ash (*Fraxinus excelsior*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 31(1): 67-74.
- Huijun, Z. and Fengxia, L., 2003. Study on *In vitro* culture of immature embryo of *Fraxinus mandshurica*. Scientia Silvae Sinicae, 39(3): 63-69.
- ISTA (International Seed Testing Association), 1996. International rules for seed testing. Seed Science and Technology, 24:155-202.
- Korori, S.A.A., Khoshnevis, M., Magholi, F. and Jebeli, M., Khanjani, B., 2002. Investigation of the metabolic development in *Fraxinus exelsior* seeds by using of enzymes and cations variation. Iranian Journal of Forests and Poplar Research, 9(1):83-148 (In Persian).
- Mirabizadeh, K., 1997. Effecting some of phyto-hormones on growth and rooting of ash (*Fraxinus americana* L.) in tissue culture and nutrient-solution culture. M.Sc. thesis, College of Basic Science, Tarbiat Modarres University, Tehran, 140p (In Persian).
- Mitras, D., Kitin, P., Iliev, I., Dancheava, D., Scaltsoyiannes, A., Tsaktsira, M., Nellas, C. and Rohr, R., 2009. *In vitro* propagation of *Fraxinus excelsior* L. by epicotyls. Journal of Biological Research-Thessaloniki, 11: 37-48.
- Mojarrabi, M., 2009. Study of seed and embryo production in ash (*Fraxinus excelsior*). M.Sc. thesis, Faculty of Natural Resources, Mazandaran University, 108p (In Persian).
- Navarrete, N.E., Van Sambeek, J.W., Preece, J.E. and Gaffney, G.R., 1989. Improved micropropagation of

www.SID.ir

Archive of SID

white ash (*Fraxinus americana* L.). Proceedings of 7th Central Hardwood Conference. Carbondale, Illinois, 5-8 Mar. 1989: 146-149.
- Nougarède, A., Silveira, C.E. and Rondet, P., 1996. In nature dormant buds and *in vitro* dormant-like buds of *Fraxinus excelsior* L. Protoplasma, 190(1-2): 16-24.
- Omidbeigi, R., 2005. Production and Processing of Medicinal Plants. Behnashr Publication, 348p.
- Palla K.J. and Pijut P.M., 2011. Regeneration of plants from *Fraxinus americana* hypocotyls and cotyledons. *In vitro* Cellular & Developmental Biology - Plant, 47(2): 250-256.
- Preece, J.E., Zhao, J. and King F.H., 1989. Callus production and somatic embryogenesis from white ash. Horticultural Science, 24(2): 377-380.
- Schoenweiss, K. and Meier-Dinkel, A., 2005. *In vitro* propagation of selected mature trees and juvenile embryo-derived cultures of common ash (*Fraxinus excelsior* L.). Propagation of Ornamental Plants, 5(3): 137-145.
- Stevens, M.E. and Pijut, P.M., 2012. Hypocotyl derived *in vitro* regeneration of pumpkin ash (*Fraxinus profunda*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 108(1): 129-135.
- Van Sambeek, J.W. and Preece, J.E., 2007. *In vitro* propagation of *Fraxinus* species: 179-192. In: Mohan Jain, S. and Häggman, H. (Eds.). Protocols for Micropropagation of Woody Trees and Fruits. Springer, Dordrecht, 559p.
- Wagner, J. and Kafka, I., 1995. Effects of medium composition on *in vitro* germination of embryos of *Fraxinus excelsior* at different stages of development. Journal of Plant physiology, 146(4): 566-568.

www.SID.ir

Archive of SID

Effect of provenances and culture media on seed germination of ash (*Fraxinus excelsior* L.) in embryo *in vitro* culture

H.R. Islami Rostami [1], S.M. Hosseini Nasr [2], S.K. Kazemitabar [3]* and F. Zafarian [4]

1- Ph.D. Student, Department of Forestry, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
2- Associate Prof., Department of Forestry, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran
3*- Corresponding author, Associate Prof., Department of Plant Breeding, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran. E-mail: sdklkr@ymail.com
4- Associate Prof., Department of Agronomy, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Sari, Iran

Received: 11.02.2019 Accepted: 07.05.2019

Abstract

Ash (*Fraxinus excelsior* L.) is a forest species with seeds consisting of hard woody skin and high dormancy that complicate the germination. This study was designed to facilitate the growth of ash seed using the *in vitro* culture of the embryo. Seeds from four regions of Kelardasht, Alandan-Kiyasar (in the Mazandaran province), Aliabad and Galikesh (in the Golestan province) were collected and sterilized using a sterilized scalpel to split tip of an embryo without any damage. Prior to being transferred to the culture medium, the embryo was washed by 70% of alcohol per minute as well as with sterile water under laminar hood. It was then placed in Monier, WPM and MS mediums in three replicates (with five ash seed per each petri dish). All indices studies here in the four geographical regions for the MS medium were significantly higher than the other two media, with the lowest amount observed in Monier culture media. In all four regions, all indices in Alandan and Galikesh were significantly higher than the other two regions, with the lowest amount observed in the Aliabad area. In addition, all indicators showed a significant and positive correlation with each other. Regressions between the length and weight index of vigor with other variables resulted in high R2 values that showed that changes in independent variables are influenced by dependent variables in a close fit. Therefore, it can be concluded that MS medium is more suitable for the *in vitro* propagation of the embryo plant of the ash.

Keywords: Hyrcanian forests, Monier, MS, site, WPM.

www.SID.ir