Archive of SID

دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۳، شماره ۲، صفحه ۱۹۱-۱۸۲ (۱۳۹۴)

اثر محیط کشت، ژنوتیپ و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازدیادی گیاه جاتروفا (*Jatropha curcas* L.)

میترا امام[1*]، لیلا میرجانی[2]، طیبه‌سهیلا نراقی[3]، هاشم کنشلو[4]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران پست الکترونیک memam@rifr-ac.ir

۲- کارشناس ارشد، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۳- کارشناس، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

۴ - استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران

تاریخ دریافت:۱۳۹۳/۱۲/۰۳ تاریخ پذیرش:۱۳۹۴/۰۴/۱۴

چکیده

جاتروفا، *Jatropha curcas* یک گونه گرمسیری سریع‌الرشد از خانواده Euphorbiaceae است این گیاه باارزش دارای اهمیت اقتصادی، دارویی و صنعتی است. تکثیر معمول گیاه از طریق بذر و قلمه می‌باشد. نظربه روغنی بودن بذر جاتروفا و پایین بودن قوه نامیه آن، از کشت جوانه برای تکثیر گیاه استفاده شد. برای ریزازدیادی گیاه، از جوانه‌های رأسی دانهال‌های دو و چهارساله جاتروفا (ژنوتیپ ۱ و ۲)، در فصل‌های مختلف سال استفاده شد. ضدعفونی‌کردن سطحی نمونه‌ها، با استفاده از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به‌مدت ده دقیقه و در فصل پاییز انجام شد و این تیمار بالاترین میزان استقرار جوانه را برای ژنوتیپ ۲ به‌همراه داشت. بیشترین رشد طولی و تکثیر شاخه در محیط MS با ترکیب سیتوکینین BA و اکسین IBA در غلظت‌های به‌ترتیب سه و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. اثرعامل ژنوتیپ بر شاخه‌زایی معنی‌دار نبود ولی تأثیر ژنوتیپ ۲ بر صفات رشد بالاتر از ژنوتیپ دیگر بود. در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌دارشدن نمونه‌ها در تیمار محیط تغییریافته MS دارای IBA در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد. گیاهان حاصل از کشت بافت پس از انتقال به خاک گلدان و در شرایط گلخانه‌ای سازگار شدند.

واژه‌های کلیدی: ریزازدیادی، ژنوتیپ، شاخه‌زایی، ریشه‌زایی و جاتروفا.

مقدمه

جنگل‌ها، سرمایه‌های ملی هر کشور محسوب می‌شوند که حفاظت و استفاده صحیح از آنها، علاوه بر کسب درآمد، بقای محیط‌زیست را نیز تضمین می‌کند. نظر به‌کمبود منابع انرژی در جهان به‌خصوص در کشورهای توسعه یافته، توجه خاصی به منابع انرژی تجدیدپذیر قابل دسترس در این کشورها شده است. یکی از مهم‌ترین این منابع انرژی سوخت‌های زیستی هستند. مواد روغنی مورد استفاده برای تولید سوخت‌های زیستی، معمولاً روغن‌های گیاهی از جمله روغن کانولا، آفتاب‌گردان، نخل، سویا و جاتروفا می‌باشند (Jones & Miller, 1992). اهمیت جاتروفا در دهه‌های اخیر به‌خاطر محصول بالای روغنش بوده است(Manjari*et al.*, 2007). روغن این گیاه می‌تواند به‌عنوان سوخت در موتورهای دیزلی و نیز در برخی اهداف مهم صنعتی و

www.SID.ir

Archive of SID

پزشکی مصرف شود. بذرهای گیاه نیز برای مصارف پزشکی و تهیه صابون اهمیت دارد (Jones and Miller, 1992). خواص دارویی بذرهای گیاه در مقابل قارچ و درمان آرتریت، شیره آن برای التیام زخم و جراحت‌های پوستی و آلرژی‌های تنفسی و لوکودرما، دم‌کرده برگ آن برای مداوای مالاریا، ساقه آن برای درمان ناراحتی‌های و عفونت‌های گلو و پیوره و خونریزی مصرف دارد. عصاره‌های آبی انشعابات آن در درمان ایدز، تومور و زخم‌های پوستی مصرف دارد (Jones & Miller, 1992).

تحقیقات بر تکثیر و توسعه گیاه محدود بوده اما توسعه سریع آن به‌عنوان فنس زنده از طریق تکثیر آن به‌طریق قلمه‌زنی انجام می‌شود. این گونه به خشکی مقاوم بوده و در نواحی خشک و نیمه خشک جهان سازگار می‌باشد. جاتروفا یک گونه سریع‌الرشد است که در سال چهارم کاشت قادر به تولید میوه و بذر می‌باشد. چنانچه تکثیر از طریق قلمه ساقه انجام شود، گیاه قادر به گلدهی در طول یکسال خواهد بود (Jones & Miller, 1992). از نظر تکثیر گیاه از طریق کشت بافت در طی تحقیقی، Manjari و همکاران (۲۰۰۷) از طریق کشت گره گیاه مزبور در محیط کشت MS (Murashige & Skooge, 1962) واجد BA و سولفات آدنین به شاخه و در نهایت به گیاه کامل رسیدند. در تحقیقی Sujatha و همکاران (۲۰۰۶) با کشت جوانه جانبی گیاه در شرایط مشابه و ویتامین‌های اضافی به گیاه کامل دست یافتند.

با توجه به ارزش گیاه از نظر اقتصادی و صنعتی و از سویی مشکلات تکثیر آن از روش‌های دیگر غیر جنسی و جنسی، ریزازدیادی جاتروفا از طریق کشت جوانه ضرورت و اهمیت ویژه‌ای می‌یابد که هدف این تحقیق می باشد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق عبارت از جوانه‌های رأسی دانهال‌های دو و چهار ساله جاتروفا (ژنوتیپ ۱ و ۲) بود که در فصل‌های مختلف سال مورد استفاده قرار گرفت.

مراحل پیش‌سترون‌سازی شامل برس‌کشی با مایع ظرفشوئی، برس‌کشی با محلول اتانل ۷۰ درصد، استفاده از محلول قارچ‌کش تیرام ۰/۲ درصد و قراردادن نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ تا ۶۰ دقیقه زیر آب جاری بود. برای سترون‌کردن جوانه‌ها از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به‌مدت دو تا ۱۲ دقیقه بسته به فصل نمونه‌برداری استفاده شد. ریزنمونه‌ها معمولاً حاوی یک یا دو جوانه و یک پایه به ابعاد ۰/۵ تا ۱/۵ سانتی‌متر بودند. بازکشت جوانه‌ها به‌طور ماهیانه انجام شد. در مرحله شاخه‌زایی تأثیر محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و ژنوتیپ در سه آزمون مختلف مورد بررسی قرار گرفت.

در آزمون اول شاخه‌زایی، ریزنمونه‌ها در محیط کشت‌های DKW (Driver & Kuniyuki, 1984) و MS با هورمون BA در غلظت‌های به‌ترتیب ۰/۵، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر در جمع هشت تیمار و هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار با پنج ریزنمونه انجام شد (جدول ۱). لازم به‌ذکر است که در طی این آزمون هورمون‌های GA و IBA به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور ثابت فرض شد و این عملیات در طی سه واکشت و با تناوب زمانی چهار هفته انجام شد. جهت آزمون آماری، اعداد مربوط به ضریب ازدیاد (متوسط تعداد جوانه و شاخه در هر تکرار)، رشد طولی و سبزینگی شاخه‌ها انتخاب شد. قابل ذکر است که عامل سبزینگی به‌دلیل کیفی بودن آن باید به‌صورت کمی تعریف شود. بنابراین در این تحقیق، رنگ برگ‌ها از سبز پررنگ تا زرد رنگ با معیارهای از ۱ تا ۴ تعریف شد.

در آزمون دوم شاخه‌زایی در این دو محیط کشت با ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد BA و 2iP در غلظت‌های ۱/۵ و ۳ میلی‌گرم در لیتر و در مجموع هشت تیمار و هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار با پنج ریزنمونه صورت گرفت. هورمون‌های GA و IBA به‌ترتیب در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور ثابت فرض شد و سایر شرایط آزمون از نظر تعداد تکرارها، شرایط کشت و تناوب زمانی واکشت‌ها نظیر آزمون اول بود (جدول ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- تیمارهای محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله شاخه‌زایی (آزمون اول)

تنظیم‌کننده‌های رشد / محیط و تیمار	اکسین (mg/l)	سیتوکینین (mg/l)				
	IBA	BA				GA
	۰/۰۱	۰/۵	۱	۲	۳	۰/۱
T1, MS	+	+	−	−	−	+
T2, MS	+	−	+	−	−	+
T3, MS	+	−	−	+	−	+
T4, MS	+	−	−	−	+	+
T5, DKW	+	+	−	−	−	+
T6, DKW	+	−	+	−	−	+
T7, DKW	+	−	−	+	−	+
T8, DKW	+	−	−	−	+	+

جدول ۲- تیمارهای محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله شاخه‌زایی (آزمون دوم)

تنظیم کننده‌های رشد / محیط و تیمار	اکسین(mg/l)	سیتوکینین (mg/l)				
	IBA	BA		GA	2iP	
	۰/۰۱	۱/۵	۳	۰/۱	۱/۵	۳
T1, MS	+	+	−	+	−	−
T2, MS	+	−	+	+	−	−
T3, MS	+	−	−	+	+	−
T4, MS	+	−	−	+	−	+
T5, DKW	+	+	−	+	−	−
T6, DKW	+	−	+	+	−	−
T7, DKW	+	−	−	+	+	−
T8, DKW	+	−	−	+	−	+

T1,T2,.... علامت تیمارهای به‌کار رفته وDKW, MS محیط کشت است.

جدول ۳- تیمارهای محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله شاخه‌زایی (آزمون سوم)

تنظیم کننده‌های رشد / تیمار	اکسین(mg/l)	سیتوکینین (mg/l)			
	IBA	BA			GA
	۰/۰۱	۱	۲	۳	۰/۱
تیمار ۱، G1	+	+	−	−	+
تیمار ۲، G1	+	−	+	−	+
تیمار ۳، G1	+	−	−	+	+
تیمار ۴، G2	+	+	−	−	+
تیمار ۵، G2	+	−	+	−	+
تیمار ۶، G2	+	−	−	+	+

G1 , G2 علامت ژنوتیپ ۱ و ۲ می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

در آزمون سوم شاخه‌زایی، از شاخه‌های دو ژنوتیپ مختلف در محیط کشت MS با هورمون BA در غلظت‌های به‌ترتیب ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر در مجموع شش تیمار و هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار با پنج ریزنمونه انجام شد. بنابراین تأثیر دوعامل هورمون و ژنوتیپ بر میزان ضریب ازدیاد (متوسط تعداد جوانه و شاخه در هر تکرار)، رشد طولی و سبزینگی شاخه‌ها در طی شش تیمار به‌مرحله اجرا در آمد (جدول۳).

ریشه‌زایی

ابتدا انتقال شاخه‌های با طول دو سانتی‌متر از مرحله شاخه‌زایی به محیط کشت MS بدون هورمون برای یک ماه به‌عنوان پیش‌تیمار ریشه‌زایی صورت گرفت. برای مرحله ریشه‌زایی، استفاده از گیاهک‌های درون شیشه‌ای دارای یک تا دو گره به‌طول ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر در پنج تیمار مختلف هورمونی IBA و NAA در غلظت‌های از ۰/۵ تا ۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور انفرادی و تلفیقی قرار گرفتند. هر تیمار در سه تکرار و هر تکرار با پنج ریزنمونه بود (جدول ۴). پس از پنج هفته میانگین درصد ریشه‌زایی و نکروزگی گیاه در تیمارهای کشت به‌دست آمد.

تجزیه و تحلیل آماری : بررسی‌های آماری از طریق آزمون فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و با استفاده از نرم‌افزار SPSS (version 16.1) انجام شد و مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها به‌روش دانکن در سطح ۵٪ صورت گرفت.

گیاهک‌های دارای ریشه پس از شستشو با آب و آغشته‌کردن ریشه‌ها به قارچ‌کش تیرام دو میلی‌گرم در لیتر، در گلدان با خاک سترون پیت/پرلیت (۱:۱) کشت و پس از سرپوش‌گذاری جهت حفظ حداکثر رطوبت در اطراف گیاهان، به درون گلخانه منتقل شدند.

جدول۴- تیمارهای محتلف ریشه‌زایی درون شیشه

تنظیم کننده‌های رشد (mg/l) / تیمار	NAA		IBA		NAA + IBA
	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۰/۳+۰/۳
تیمار ۱	+	−	−	−	−
تیمار۲	−	+	−	−	−
تیمار۳	−	−	+	−	−
تیمار۴	−	−	−	+	−
تیمار۵	−	−	−	−	+

نتایج

در فصل بهار (جدول۵) تیمار پنج دقیقه غوطه‌وری در محلول مورد استفاده در سترون‌کردن نمونه‌ها و در فصل تابستان (جدول ۶) به همان‌ترتیب زمان هفت دقیقه، مناسب بود. در مجموع روش بهینه سترون‌سازی جوانه، استفاده از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد در زمان ده دقیقه در فصل پاییز و برای ژنوتیپ یک با بالاترین میزان استقرار جوانه نسبت به سایر فصول سال تعیین شد (جدول۷).

در بررسی تأثیر محیط کشت بر صفات رشدی شاخه، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عامل محیط کشت بر صفات رشدی شامل ضریب ازدیاد شاخه و رشد طولی به استثنای سبزینگی برگ دارای تأثیر معنی‌داری در سطح یک درصد بود (جدول ۸)، به‌طوری‌که بیشترین رشد طولی و تکثیر شاخه و جوانه در محیط **MS** دارای هورمون BA سه میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول ۹).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۵ – تأثیر تیمارهای مختلف ضد عفونی بر درصد استقرار جوانه‌های جاتروفا در فصل بهار

زمان ضدعفونی با محلول کلریدجیوه ۰/۱ درصد	درصد استقرار	درصدآلودگی	درصد نکروزگی
۵دقیقه	۱۷	۱۱	۷۲
۷ دقیقه	۱۱	۷	۸۲
۹ دقیقه	۱۴	۹	۷۷

جدول۶– تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی بر درصد استقرار جوانه‌ها در فصل تابستان

زمان ضدعفونی با محلول کلریدجیوه ۰/۱ درصد	درصد استقرار	درصد نکروزگی	درصد آلودگی
۵دقیقه	۵۲	۳۸	۱۰
۷ دقیقه	۶۴	۳۲	۴

جدول ۷– تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی بر درصد استقرار جوانه‌ها در فصل پائیز

زمان ضدعفونی با محلول کلریدجیوه ۰/۱ درصد	درصد استقرار	درصد نکروزگی	درصد آلودگی
ژنوتیپ۱، ۸ دقیقه	۸۰	۱۶	۴
ژنوتیپ۱، ۱۰ دقیقه	۹۲	۱	۷
ژنوتیپ۲، ۸ دقیقه	۶۹	۳۰	۱
ژنوتیپ۲، ۱۰ دقیقه	۵۰	۴۳	۷

ژنوتیپ ۱: نهال دو ساله ژنوتیپ ۲: نهال چهار ساله

جدول ۸– میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات رشد طولی، شاخه‌زایی، جوانه‌زایی و سبزینگی برگ ریزنمونه‌های جاتروفا با تیمارهای آزمون اول

منابع تغییر	درجه آزادی	رشد طولی	شاخه زایی	جوانه زایی	سبزینگی برگ
محیط کشت	۷	۲/۵۶**	۲/۱۰۸۰**	۴/۵۷**	۰/۷۵۴ ^{ns}
خطا	۱۴	۰/۴۳	۰/۵۴	۱/۲۴	۰/۳۳۱

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ و ns: بدون معنی

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۹- مقایسه میانگین‌های تعداد شاخه، طول شاخه، تعداد جوانه و سبزینگی برگ ریزنمونه‌های جاتروفا

محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد	تعداد شاخه	طول شاخه (cm)	تعدادجوانه	سبزینگی برگ (درجه ۱ تا ۴)
MSBA0.5	۱/۸۳b	۱/۸۶bc	۴/۶۶b	۳/۴۱abc
MSBA1	۱b	۱/۳۵c	۳bc	۲/۵c
MSBA2	۱/۸۳b	۲/۶۶ab	۶/۸۳a	۲/۶۶bc
MSBA3	۳/۶۶a	۳/۴۱a	۷/۳a	۳/۹۱abc
DKWBA0.5	۱/۴b	۱/۱۳c	۱/۸۶bc	۳/۲۱abc
DKWBA1	۱/۰۶b	۰/۷۵c	۲/۲۳bc	۲/۹۶ab
DKWBA2	۱/۵b	۰/۸۳c	۱/۶۸bc	۳/۵۶ab
DKWBA3	۱/۹b	۱/۷۳bc	۲/۸bc	۳/۷ab

مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها به‌روش دانکن صورت گرفت و میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

همانطور که از جدول ۹ مشخص است، در تیمار MSBA3 میانگین‌های شاخص‌های رشدی نسبت به سایر تیمارهای بکار رفته به‌طور معنی‌داری بالاتر است. تفاوت مقادیر شاخص‌های رشدی با کاهش میزان هورمون BA از سه تا یک میلی‌گرم در لیتر در بین تیمارهای فوق سیر نزولی دارد.

جدول ۱۰- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات رشد طولی، شاخه‌زایی، جوانه‌زایی و سبزینگی برگ ریزنمونه‌های جاتروفا با تیمارهای آزمون دوم

منابع تغییر	درجه آزادی	رشد طولی	شاخه زایی	جوانه زایی	سبزینگی برگ
تیمار	۷	۰/۱۳۳^{ns}	۰/۴۹۳^{ns}	۴/۶**	۰/۲۷ ^{ns}
خطا	۱۴	۰/۱۳۳	۰/۲۶۷	۰/۵۲۴	۰/۳۸

* و **: به‌ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ و ns: بدون معنی

جدول ۱۱- مقایسه میانگین‌های تعداد شاخه، طول شاخه (cm)، تعداد جوانه و سبزینگی برگ ریزنمونه‌های جاتروفا

محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد	تعداد شاخه	طول شاخه (cm)	تعدادجوانه	سبزینگی برگ (درجه ۱ تا ۴)
MSBA3	۲/۹۶ab	۲/۳۱a	۷/۹۶a	۳/۸۵ab
MS2ip3	۲/۸۳ab	۱/۹۳ab	۴/۸۳b	۳/۷ab
MSBA1.5	۲/۳۰ab	۲/۰۸ab	۵/۵b	۳/۷ab
MS2ip1.5	۲/۰۶ab	۱/۷۹ab	۴/۶۳b	۳/۶۶ab
DKWBA3	۲/۹۶ab	۱/۷ab	۷/۴a	۳/۹۱a
DKW2ip3	۲/۸۶ab	۱/۷۳ab	۵/۴ b	۳/۶۶ ab
DKWBA1.5	۲/۱۶ab	۲/۰۱ab	۴/۷۶b	۳/۸۳ab
DKW2ip1.5	۳/۰۶a	۲/۱۱ab	۵/۶۳b	۳/۸۳ab

www.SID.ir

Archive of SID

مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها به‌روش دانکن صورت گرفت و میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

در بررسی تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات رشدی شاخه، نتایج تجزیه واریانس نشان داد که عامل مزبور تنها بر صفت رشدی جوانه‌زایی اثر معنی‌داری در سطح یک درصد دارد (جدول۱۰). در جدول ۱۱، بالاترین میانگین رشدی در تیمار MSBA3 دیده شد که با نتایج آزمون قبلی این تحقیق همخوانی دارد، هرچند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مورد شاخص جوانه‌زایی نیز این تیمار در هر دو محیط کشت بالاترین میزان را با تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها به خود اختصاص داد.

جدول۱۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات ضریب ازدیاد شاخه و جوانه، رشد طولی و سبزینگی شاخه تحت تأثیر محیط کشت و ژنوتیپ (آزمون سوم)

منابع تغییر	درجه آزادی	ضریب ازدیاد جوانه	ضریب ازدیاد شاخه	رشد طولی	سبزینگی
هورمون	۲	۱/۱۷۴ ns	۰/۷۵۷ns	۰/۶۲۷ ns	۰/۱۹۴ns
ژنوتیپ	۳	۰/۳۴ ns	۰/۱۷۴ ns	۰/۳۴ ns	۰/۵ns
خطا	۲۸	۰/۷۷۲	۰/۴۵۲	۰/۲۸۲	۰/۲۳۵

** معنی دار در سطح ۰/۰۱ * معنی دار در سطح ۰/۰۵ ns بدون معنی

جدول ۱۲ نشان‌دهنده تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی تحت تاثیر محیط کشت و ژنوتیپ است به‌طوریکه تاثیر هریک از عوامل هورمون و ژنوتیپ بر شاخص‌ها غیر معنی‌دار بود. در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌زایی در تیمار مربوط به IBA در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول۱۳). گیاهان حاصل از کشت بافت پس از انتقال به خاک گلدان و در شرایط گلخانه‌ای سازگار شدند (شکل ۱).

در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌دار شدن نمونه‌ها در تیمار مربوط به IBA در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول۱۳). از نظر میزان سازگاری، گیاهان کشت بافتی پس از انتقال به خاک گلدان و در شرایط گلخانه‌ای سازگار شدند (شکل ۱).

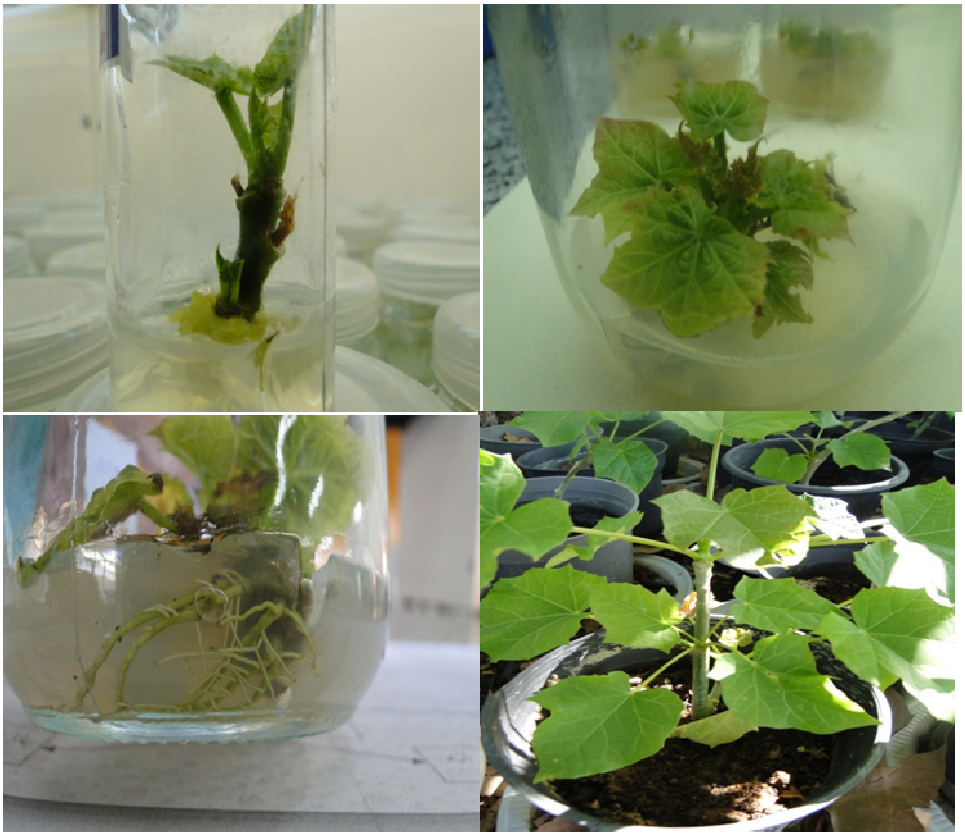
جدول ۱۳: میانگین درصد ریشه‌زایی نمونه‌های جاتروفا در تیمارهای مختلف هورمونی اکسین

صفات	(mg/l) NAA		(mg/l) IBA		(mg/l) NAA + IBA
	۰/۵	۱	۰/۵	۱	۰/۳+۰/۳
درصد ریشه‌زایی	۹/۱c	۶d	۱۲/۲b	۴۰a	۵d
درصد نکروزگی	۴۳/۳d	۷۶/۶a	۵۵/۵b	۴۵/۵b	۶۴/۴c

مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها به‌روش دانکن صورت گرفت و میانگین‌های دارای حروف مشترک از نظر آماری در سطح ۰/۰۵ اختلاف معنی‌داری ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- مراحل ریزازدیادی گیاه جاتروفا به‌ترتیب از چپ به راست:الف: استقرار جوانه ب: شاخه‌زایی ج: ریشه‌زایی د: نهال کشت بافتی

بحث

در روش پیش‌سترون‌سازی جوانه‌ها، برس‌کشی سطح نمونه‌ها با مایع ظرفشوئی و اتانل در حذف زوائد سطح جوانه و لایه مومی سطح کوتیکول موثر بود و آلودگی‌های سطحی را تا حد امکان به‌حداقل رسانید و اجازه نفوذ و تاثیر مناسب‌تر محلول اصلی ضدعفونی‌کننده را بر بافت نمونه داد. در این زمینه Enjarlic و Lardet (۱۹۸۸) نیز در گزارش خود بر مفید بودن این روش سترون‌سازی اشاره داشتند. در مرحله اصلی سترون‌سازی، کاربرد محلول کلریدجیوه با مقادیر ضعیف و در زمان‌های کوتاه مدت (۰/۱ درصد در زمان ده دقیقه و در فصل پاییز) تاثیر قوی و ماندگاری را بر حذف آلودگی‌های میکروبی با حداقل نکروزه شدن بافت جوانه داشت. در بین تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده در مرحله شاخه‌زایی، بیشترین میانگین ضریب ازدیاد شاخه و جوانه، رشد طولی و سبزینگی شاخه در محیط کشت با ترکیب هورمونی BA (۳ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) به‌دست آمد. ضمن اینکه BAاز جمله تنظیم‌کننده‌های محرک رشد و تکثیر شاخه با قدرت ماندگاری بالا بوده و در غلظت‌های نسبتا بالای این هورمون، رشد شاخه‌های جانبی گیاهان به‌دست می‌آید که به‌دلیل ذخیره شدن این هورمون در جوانه‌های جانبی گیاه است (Evers, 1988). در همین زمینه Bonga و Aderkas (۱۹۹۲) نیز نتیجه گرفتند که تیمار سیتوکنین به‌همراه غلظت‌های ضعیف اکسین بر ایجاد شاخه‌های نابجا، به‌خصوص در آغاز شاخه‌زایی موثر بوده است. در طی تحقیقی بر روی گیاه مزبور Manjari و همکاران (۲۰۰۷) تکثیر انبوه آن از کشت جوانه انتهایی و بر محیط MS با BA و آدنین سولفات با میانگین شاخه‌زایی شش عدد در هر گره را به‌دست آوردند. مشابه بررسی اخیر Sujatha و همکاران (۲۰۰۶) نیز رشد جوانه‌های رأسی را بر همان محیط با

www.SID.ir

Archive of SID

هورمـون BA در غلظـت سـه و IBA در غلظـت یـک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آوردند. در تحقیق دیگری Datta و همکاران (۲۰۰۷) تکثیر درون شیشـه‌ای گیـاه هفـت ماهـه جاتروفـا را از قطعـات گـره‌ای بـر محـیط MS بـا ۲۲/۲ میکرومول BA و ۵۵/۶ میکرومول آدنین سولفات بـه‌دسـت آوردند. ریشه‌زایی نیز در همان محیط بـا یـک میکرومـول IBA حاصل شد. همچنین Singh (۲۰۱۰) در محیط کشت MS با BA و Kin یک میلی‌گرم در لیتر به شاخه‌زایی و در ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بعد از پنج هفته به ریشه‌زایـی رسید. برای تحریک ریشه‌زایی در این تحقیق از پیش‌تیمـار محـیط کشـت بـدون هورمـون اسـتفاده شـد، زیـرا تجمـع فلاونوئیدها به‌وسیله اکسین، منجر به تشکیل ریشه شـده کـه این اتفاق در حضور سیتوکنین صـورت نمـی‌گرفـت. نتـایج مربوط به مرحله ریشـه‌زایـی حـاکی از نتیجـه مناسـب در تیمارهورمونی یک میلی‌گرم در لیتر IBA و در محیط کشت MS با نصف غلظـت از امـلاح پرمصـرف بـود. در تحقیـق دیگری Dalal وRai (۲۰۰۴) ریشه‌زایی را در محیط LS و IBA سه درصد و هفت روز دوره تاریکی به‌دست آوردنـد. هورمون IBA به‌طور گسترده برای ریشـه‌زایـی گونـه‌هـای چوبی که بـه‌سـختی ریشـه‌دار مـی‌شـد بـه‌کـار مـی‌رفـت (Rathore, *et al*., 2007). در ضمن Dalal و Rai (۲۰۰۴) اشاره داشتند که کاهش نمک‌های معدنی موجـود در محـیط کشت، در تسهیل مرحله انتقال گیاهان کشت بافتی به خـاک و سـازگاری آن‌هـا مـؤثر مـی‌باشـد. همچنـین Chalupa, (۱۹۸۷) تأثیر هورمون‌های خانواده اکسین از جملـه IBA و NAA و یا ترکیبی از ایـن دو هورمـون را بـر ریشـه‌زایـی گونه‌های مختلف جنگلی، مثبت ارزیابی کرد. بر این اسـاس، در این تحقیق نیز از ایـن هورمـون‌هـا بـه‌صـورت مجـزا و همچنین تلفیقی استفاده شد ولی نتیجه چندان رضایت‌بخـش نبـود. Manjari و همکـاران (۲۰۰۷) در تحقیقـی بـر گیـاه مزبور ریشه‌زایی را با میانگین ۵۲ درصـد در محـیط نصـف غلظت MS و یک میکرومول IBA به‌دست آوردند.

منابع مورد استفاده

– Bonga, J.M. and Von Aderkas, P., 1992. *In vitro* culture of trees. In: Forestry Science Book, Vol. 38, Kluwer Academic Punlishers, London, 236p.

– Chalupa,V., 1987. Effect of benzyl amino purine and thydiazuron on *in vitro* shoot proliferation of *Tilia cordata Mill*., *Sorbus aucuparia* L. and *Robinia pseudo acaciae* L. Biologia Plantarum, 29: 425-429.

– Dalal, N.V. and Rai, V.R., 2004. *In vitro* propagation of *Oroxylum indicum* Vent. A medicinally important forest tree. Journal for Research, 9: 61-65.

– Datta, M.M., Mukherjee P., Ghosh B. and Jha, T.B., 2007. *In vitro* clonal propagation of biodiesel plant; Current Science, 93: 1438.

– Driver, J. A. and Kuniyuki, H., 1984. *In vitro* propagation of Paradox walnut root stocks (*J. hindsii*× *J. regia*). HortScience, 19: 507-509.

– Enjarlic, F., and Lardet, L., 1988. Contamination of primary culture in tropical areas. Acta Horticulture, 225: 57-65.

- Evers, P.W., Donkers, J., Prat, A. and Vermeer, E., 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture: 98-102. In: Bonga, J.M. and Aderkas. P., (Eds). *In Vitro* Culture of Trees. Centre for Agricultural Publishing and Documentation (Pudoc): 236 P.

– Jones, N. and Miller J.H., 1992. *Jatropha curcas*: A multipurpose Species for Problematic Sites,. The World Bank, Washington DC USA.

– Manjari, M., Priyanka, M., Biswajit, G. and Timir, B., 2007. *In vitro* clonal propagation of Biodiesel plant (*Jatropha curcas* L.). Research Communication. Current Science. Vol. 1.

– Murashige, T. and Skooge, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473-597.

– Rathore, J.S., Rathore, M.S., Singh, M., Singh, R. and Pyshekhawat, N.S., 2007. Micropropagation of mature tree of Citrus limon. Indian Journal of Biotechnology, 6: 239-244.

Singh, A., Reddy, M.P., Chikera, J. and Singh, S.A., 2010. Simple regeneration protocol from stem explants of *Jatropha curcas*. Industrial Crops and Products, 31: 209-213.

– Sujatha, M., Makkar, H.P.S. and Becker, K., 2006. Shoot bud proliferation from axillary nodes and leaf sections of non-toxic *Jatropha curcas* L. Plant Growth Regulator, 47: 83–90.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of medium, genotype and plant growth regulators on micro propagation of *Jatropha curcas*

M. Emam*[1], L. Mirjani[2], T. S. Naraghi[3]and H. Keneshloo[4]

1* - Corresponding author, Assist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran, Email:memam@rifr-ac.ir
2 - M.Sc. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran
3- B.Sc. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran
4 - Assist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran

Received:22.02.2015 Accepted:05.07.2015

Abstract

Jatropha curcas is a tropical fast growing tree from euphorbiaceae family. The valuable species has medicinal, industrial and ornamental applications. Regeneration of the species was performed by seeds and cuttings. Regarding Jatropha's seed nature (oily seed), for which low germination is resulted, regeneration of the species was studied by stem cuttings. For micro propagation, apical buds of 2 and 4 years old genotypes (Gen 1 and Gen 2) from different seasons were applied. The best treatment of sterilization was found to be $HgCl_2$ 0.1% solution for 10 minutes on fall samples for genotype 2. The best medium for shoot proliferation was MS medium with BA (3 mg/l) and IBA (0.1 mg/l). Effect of genotype on shooting was nonsense but genotype 2 had higher effect on growth factors. The most rooting of shoots was observed in modified MS medium supplemented with 1 mg/l of IBA. Plantlets were acclimated in greenhouse after transferring to soil.

Keywords: Genotype, *Jatropha curcas,* micro propagation, rooting, shooting.

www.SID.ir