جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد
مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ٦ شماره ٤ صفحه های ۱۷۱ تا ۱۸۲ (۱۳۸٤)

اثر محیط های کشت و تنظیم کننده های رشد بر ریزافزایی پیرتروم[1]
[*Tanacetum cinerariaefolium* (Trevir) Schultz-Bip.]

EFFECTS OF CULTURE MEDIA AND GROWTH REGULATORS ON MICROPROPAGATION OF PYRETHRUM [*TANACETUM CINERARIAEFOLIUM* (TREVIR) SCHULTZ – BIP.]

محمد هدایت و مرتضی خوشخوی[2]

چکیده

افزایش درون شیشه ای پیرتروم با استفاده از محیط کشت های موراشیگی و اسکوگ[3] (MS)، گمبورگ[4] (B5) و شنک و هیلدبرانت[5] (SH) با استفاده از نوک شاخساره انجام شد. ابتدا جوانه های جانبی از شاخساره های گیاهان رشد یافته در گلخانه پس از گندزدایی روی محیط کشت پایه MS قرار گرفتند و پس از یک ماه ریزنمونه های شاخساره روی محیط کشت های MS، B5 و SH با غلظت های مختلف بنزیل آدنین[6] (BA) (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر) و نفتالن استیک اسید[7] (NAA) (۰، ۱، ۲، ٤ و ٦ میلی گرم در لیتر) قرار گرفتند. پس از ٦ هفته، پرآوری[8] شاخساره ها از ریزنمونه ها بررسی شد. بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت MS با غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA و۲ میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد. بیشترین میانگین طول شاخساره های نابجا در هر سه محیط کشت، در تیمار های بدون BA به دست آمد و کاربرد BA در محیط های کشت موجب کاهش طول شاخساره ها شد. بالاترین وزن تر شاخساره ها در محیط کشت MS در مقایسه با B5 و SH دیده شد. بررسی برهمکنش تنظیم کننده های رشد در هر سه محیط کشت نشان داد که بیشترین غلظت های BA با تمامی غلظت های به کار رفته NAA دارای کمترین میزان درصد وزن تر شاخساره می باشند. برای ریشه زایی شاخساره های تولید شده، محیط کشت های MS، B5 و SH باغلظت های مختلف از NAA مورد استفاده قرار گرفتند و پس از ٤ هفته در تمامی تیمار ها ریشه تشکیل شد. بیشترین تعداد ریشه در هر سه محیط کشت با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد و با افزایش غلظت NAA تعداد ریشه ها کاهش یافت. بلندترین طول ریشه در تیمار شاهد هر سه محیط کشت MS، SH و B5 به دست آمد و متناسب با افزایش غلظت NAA در هر سه محیط کشت میانگین طول ریشه ها کاهش یافت. سازگاری گیاهک های ریشه دار شده در آمیخته خاکی ۳ به ۱ ورمی کولایت به پیت با موفقیت مناسبی همراه بود.

واژه های کلیدی: پرآوری، پیرتروم، کشت درون شیشه ای، محیط کشت.

مقدمه

گیاه پیرتروم یا گل حشره کش با نام علمی *Tanacetum cinerariaefolium* (Trevir) Schultz-Bip. [Syn. *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.] گیاهی علفی چند ساله از تیره کلاه پرک سانان[9] است که

۱- تاریخ دریافت: ۸۳/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۸٤/۸/۱۸
۲- به ترتیب دانشجوی دکتری و استاد بخش علوم باغبانی, دانشکده کشاورزی, دانشگاه شیراز, شیراز, جمهوری اسلامی ایران.
۳- Murashige and Skoog ٤- Gamborg ٥- Schenk and Hildebrandt ٦- Benzyl adenine
۷- Naphthaleneacetic acid ۸- Proliferation ۹- Asteraceae

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

یکی از مهمترین گیاهان تجاری برای استخراج مواد حشره کش به نام پیرترین ها[۱] می باشد. پیرترین ها مجموعه ای از ترکیب های استری شامل پیرترین ۱ و۲[۲]، جاسمولین ۱ و۲ [۳] و سینرین ۱ و۲ [٤] هستند که از گل های خشک گیاه پیرتروم استخراج می شوند (شکل A-۱). پیرترین ها به دلیل آمیخته ترکیبی، بر گستره وسیعی از حشرات، بدون ایجاد مقاومت در آن ها، به سرعت اثر کشندگی می گذارند (۱، ٤، ۷، ۲۲). همچنین پیرترین ها سمیت بسیار ناچیزی بر جانوران خون گرم داشته و مشکل زیست محیطی بقایای مواد زاید و سمی را در طبیعت ندارند (۵، ۷، ۱۰). این دلایل سبب شده تا کاشت و تجارت این گیاه افزایش چشمگیری یابد.

روش معمول افزایش پیرتروم, تقسیم بوته[۵] و قلمه ساقه است. اما این روش های افزایش کم بازده و زمان بر بوده و مشکل انتقال بیماری ها از جمله نماتد ریشه گره ای[٦] پیرتروم را دارد (۱۷). به همین دلیل، افزایش درون شیشه ای[۷] به عنوان یک سیستم کارآمد، افزون بر نگهداری ویژگی های مناسب گیاه می تواند تولید جمعیت گیاهی یکنواخت و عاری ازآلودگی را فراهم سازد (۲، ۵، ۱۱،۱۳). همچنین، افزایش در چنین شرایطی سریع تر صورت می گیرد (۲، ۱۱). در این رابطه پژوهش هایی برای ریزافزایی پیرتروم با استفاده از ریزنمونه هایی مانند جوانه جانبی (۱۲، ۱۳)، برگ (۱۲، ۱۹، ۲۳)، دمبرگ (۱۸، ۲۳)، گل آذین (۸) و از روش غیرمستقیم با عبور از مرحله پینه زایی (۸، ۹، ۱۳، ۱۸) گزارش شده است. در تمامی پژوهش های انجام شده روی گیاه پیرتروم، محیط کشت پایه MS برای ریزافزایی مورد استفاده قرار گرفته است.

تا کنون گزارشی درباره افزایش درون شیشه ای گیاه پیرتروم با استفاده از محیط کشت های مختلف منتشر نشده است. هدف از این پژوهش، بررسی ریزافزایی پیرتروم به وسیله پرآوری بیشتر شاخساره در محیط کشت های MS، B5 و SH همراه با تعیین اثر غلظت های مناسبی از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی برای انگیزش و رشد شاخساره ها و ریشه زایی در این گیاه بوده است.

مواد و روش ها

گیاهان پیرتروم از مؤسسه گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران تهیه شده و به گلخانه بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز منتقل شد. پس از یک ماه استقرار گیاهان در گلخانه با دمای ۳±۲٦ درجه سانتی گراد و تولید ساقه گل دهنده، ساقه های جوان جدا شده و در آزمایشگاه با محلول ۱۵٪ هیپوکلریت سدیم تجاری به مدت ۲۰ دقیقه گندزدایی و ۵ مرتبه با آب مقطر سترون آبکشی شدند. کشت جوانه های جانبی در محیط کشت پایه MS با ۷/۵ گرم در لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر سوکروز انجام شد.

پس از یک ماه از شاخساره های تولید شده، ریز نمونه هایی به طول ۳±٦ میلی متر، وزن ۰/۰۲ ±۰/۰۵ گرم و دستکم ۲ گره تهیه گردید (شکل B-۱). ریزنمونه ها برای انگیزش جوانه ها و تولید شاخساره در محیط کشت های پایه MS (۱٦)، B5 (٦) و SH (۲۱) همراه با ۳۰ گرم در لیتر سوکروز، ۷/۵ گرم در لیتر آگار با pH برابر ۰/۰۵ ±۵/۸ و تیمار تنظیم کننده های رشد BA با غلظت های ۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر و NAA در غلظت های ۰، ۱، ۲، ٤ و٦ میلی گرم در لیتر کشت شدند. تمامی محیط کشت های ساخته شده، پیش از انتقال ریزنمونه روی محیط های کشت، به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد و فشار ۱/۵ کیلوگرم بر سانتیمتر مربع گندزدایی شده و در ظروف شیشه ای به میزان ۲۰ میلی لیتر تقسیم گردید. پس از ٦ هفته، شاخساره های تولید شده (شکل C-۱) برای ریشه زایی به محیط کشت های پایه MS، B5 و SH همراه با

۱- Pyrethrins ۲- Pyrethrin I, II ۳- Jasmolin I, II ٤- Cinerin I, II
۵- Division ٦- Root–knot nematodes ۷- *In vitro*

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

تنظیم کننده رشد NAA با غلظت های ۰، ۱، ۲، ٤ و٦ میلی گرم در لیتر انتقال یافتند. شاخساره ها به طول ۲±۷ میلی متر با دستکم ۳ گره در محیط ریشه زایی قرار داده شدند. در تمامی مراحل ریزافزایی، شرایط نگهداری شاخساره های کشت شده شامل ١٦ ساعت روشنایی در شبانه روز، دمای۳±۲٦ درجه سانتی گراد و شدت نور حدود ۱۰۰۰ لوکس بود.

گیاهک ها پس از ٤ هفته ریشه دار شده (شکل D-۱) و برای سازگاری به گلدان های حاوی آمیخته گندزدایی شده از ۷۰٪ ورمی کولایت و ۳۰٪ پیت منتقل شدند. گلدان ها در دمای ۳±۲۵ درجه سانتی گراد و شدت نور ۱۰۰۰ لوکس در جعبه دربدار شفاف ویژه نگهداری گیاهان قرار گرفتند. آبیاری گلدان ها ابتدا با محلول ۱٪ غلظت نمک محیط کشت های مصرف شده همراه با قارچکش بنومیل به غلظت ۱٪ در مدت یک هفته و پس از آن با آب معمولی همراه با قارچکش انجام شد و به مرور گیاهان با محیط بیرون سازگار شدند.

در آزمایش پرآوری شاخه، تعداد شاخساره های ایجاد شده بلندتر از ۳ میلی متر، میانگین طول شاخساره ها، شاخص وزن تر شاخساره های تولید شده بر اساس معادله درصد تفاضل وزن تر نهایی از وزن تر اولیه, تقسیم بر وزن تر نهایی (۸)، یادداشت برداری گردید. در آزمایش ریشه زایی نیز، تعداد ریشه ها و میانگین طول آن ها یادداشت شدند. تمامی آزمایش ها به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با ٦ تکرار و در هر تکرار ۳ ریز نمونه انجام گرفت. تجزیه آماری داده ها و مقایسه میانگین ها بر اساس آزمون جدید چند دامنه ای دانکن (DNMRT)[۱] در سطح ۵٪ توسط نرم افزار MSTAT C صورت پذیرفت.

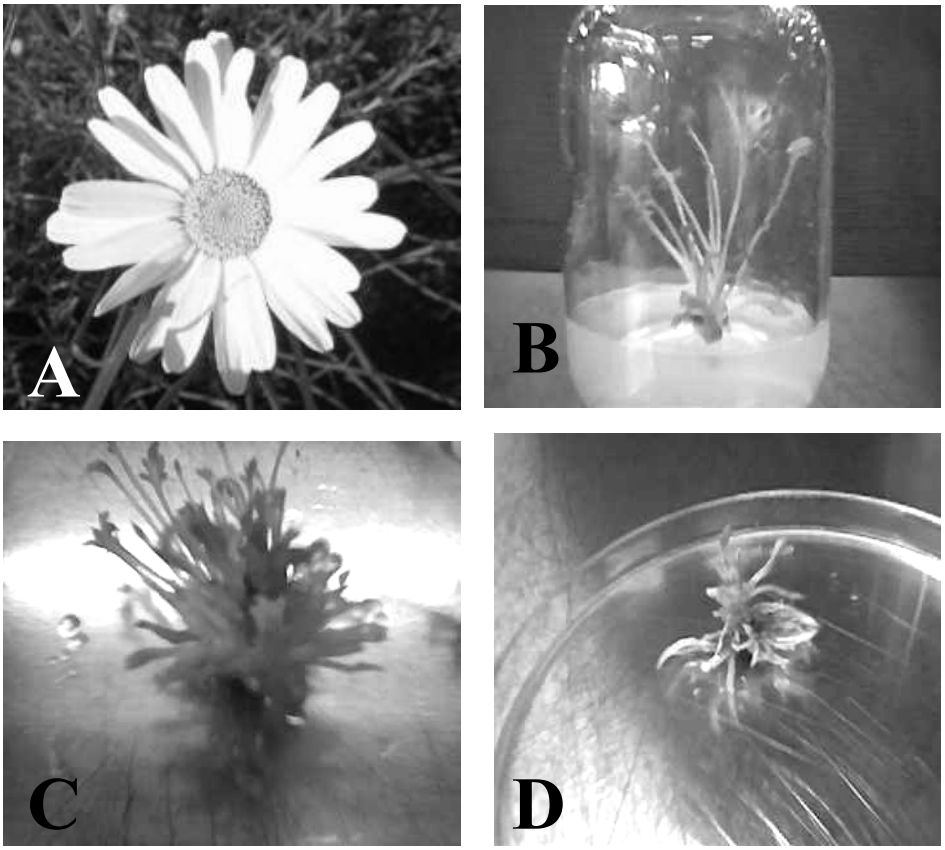

Fig.1. Flower (A), establishment stage (B), proliferation stage (C) and rooting stage (D) of pyrethrum.

شکل ۱- گل (A)، مرحله استقرار (B)، مرحله پرآوری (C) و مرحله ریشه زایی (D) گیاه پیرتروم.

۱- Duncan's new multiple range test

نتایج

پرآوری شاخه

نتایج به دست آمده در محیط کشت های مختلف نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره با استفاده از محیط کشت MS تولید شد، که با تعداد شاخساره های تولید شده در محیط کشت SH تفاوت معنی داری نداشت، ولی با محیط کشت B5 تفاوت معنی داری به دست آمد (جدول ۱). بیشترین طول و شاخص وزن تر شاخساره ها در محیط کشت MS مشاهده شد، به طوری که تفاوت معنی‌داری نسبت به محیط کشت B5 و SH داشت (جدول ۱).

جدول۱- مقایسه میانگین تعداد، طول و شاخص وزن تر شاخساره های پرآوری شده در پیرتروم روی محیط کشت های مختلف.

Table 1. Comparison of means of number, length and fresh weight index of proliferated shoots in pyrethrum on different media.

محیط کشت Medium	تعداد شاخساره Shoot No.	طول شاخساره (میلی متر) Shoot length (mm)	وزن تر شاخساره (٪) Shoot fresh weight (%)
MS	8.34a†	59.02a	76.99a
B5	4.38b	38.97b	72.92b
SH	7.39a	42.15b	73.87b

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

بررسی برهمکنش غلظت های مختلف BA و NAA در سه نوع محیط کشت MS، B5 و SH بر تولید شاخساره نشان داد که کاربرد غلظت های مختلف BA و NAA درمحیط کشت MS پرآوری شاخساره بیشتری نسبت به محیط کشت های B5 و SH تولید نمود (جدول۲). در محیط کشت MS با افزایش غلظت BA به میزان ۱/۵ میلی گرم در لیتر در برهمکنش با تمامی غلظت های NAA موجب افزایش پرآوری شاخساره و بیش از غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA باعث کاهش تولید شاخساره ها شد (جدول ۲). افزایش غلظت NAA در محیط کشت MS در برهمکنش با غلظت کم BA شامل ۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر موجب افزایش تعداد شاخساره ها شد و با غلظت های بیشتری از BA، بیشترین پرآوری در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA مشاهده گردید که بیشترین تعداد شاخساره تولید شده در محیط کشت MS در غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۲ میلی گرم در لیتر NAA به دست آمد که با غلظت های ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۱ و ٤ میلی گرم در لیتر NAA و غلظت ۲ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۲ میلی گرم در لیتر NAA تفاوت معنی داری نداشت (جدول ۲).

جدول۲- برهمکنش محیط کشت های متفاوت با غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد بر میزان پرآوری شاخساره ها در پیرتروم.

Table 2. Interaction of different media and various growth regulator concentrations on shoot proliferation of pyrethrum.

محیط کشت Medium	غلظت BA (میلی گرم در لیتر) BA concentration (mg l^{-1})	غلظت NAA (میلی گرم در لیتر) NAA concentration (mg l^{-1})				
		0	1	2	4	6
MS	0.0	0.33g†	1.33g	6.00ef	6.67def	12.00bcd
	0.5	2.67fg	4.00fg	6.33def	7.33def	7.33def
	1.0	2.67fg	12.67bcd	14.00bc	14.67bc	8.00de
	1.5	4.00fg	15.00ab	21.33a	17.67ab	14.33bc
	2.0	2.00g	8.33de	20.00a	14.67bc	10.33cde
	2.5	1.67g	5.33efg	19.00a	5.00efg	3.00fg
	3.0	1.00g	5.33efg	11.33cd	4.00fg	2.67fg
B5	0.0	2.33fg	3.67fg	2.00fg	1.33g	1.33g
	0.5	11.00cd	14.67bc	5.33efg	5.00efg	2.00fg
	1.0	7.67def	12.67bcd	5.33efg	3.33fg	2.33fg
	1.5	6.00ef	12.67bcd	5.00efg	3.33fg	2.00fg
	2.0	4.33fg	8.67de	2.67fg	2.67fg	1.67g
	2.5	3.33fg	5.67ef	2.33fg	2.33fg	1.33g
	3.0	2.33fg	2.33fg	2.33fg	1.33g	1.00g
SH	0.0	3.00fg	3.33fg	3.33fg	3.00fg	2.33fg
	0.5	10.00cde	10.33cde	16.00ab	13.33bcd	7.33def
	1.0	7.00def	10.33cde	15.00ab	10.00cde	5.67efg
	1.5	8.67de	9.00cde	14.00bc	8.33de	6.00ef
	2.0	6.33ef	7.67def	11.00cd	5.67efg	5.00efg
	2.5	5.00efg	5.67efg	9.3cde	6.00ef	5.33efg
	3.0	4.67efg	5.67efg	9.0cde	4.00fg	2.33fg

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

در محیط کشت های B5 و SH در غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA در برهمکنش با تمامی سطوح به کار رفته NAA شاخساره های بیشتری مشاهده شد و افزایش غلظت BA در هر دو محیط کشت B5 و SH موجب کاهش تعداد شاخساره ها گردید (جدول ۲). در محیط کشت B5 کمترین غلظت بکار رفته NAA شامل ۱ میلی گرم در لیتر و در محیط کشت SH غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA با تمامی تیمارهای BA پرآوری بیشتری دیده شد (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخساره تولید شده برای هر دو محیط کشت B5 و SH، تنها در محیط کشت SH در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA همراه با ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر BA به دست آمد که تفاوت معنی داری با بیشترین تعداد شاخساره ها در محیط کشت MS نداشت (جدول ۲).

بلندترین میانگین طول شاخساره‌ها در برهمکنش محیط کشت‌های متفاوت و تنظیم کننده‌های رشد BA و NAA، در تیمارهای بدون تنظیم کننده رشد BA به دست آمد، به طوری که کاربرد BA با هر یک از غلظت های به کار رفته NAA در هر سه محیط کشت، متوسط طول شاخساره ها را کاهش داد (جدول ۳). افزایش غلظت BA در محیط کشت های B5 و SH حاوی NAA موجب کاهش طول شاخساره ها گردید، به گونه ای که غلظت های بیش از ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA دارای اختلاف معنی داری با تیمارهای بدون کاربرد BA در محیط کشت های B5 و SH بودند (جدول ۳).

جدول۳- برهمکنش محیط کشت های متفاوت با غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد بر میانگین طول شاخساره ها (میلی متر) در پیرتروم.

Table 3. Interaction of different media and various growth regulator concentrations on mean shoot length (mm) of pyrethrum.

محیط کشت Medium	غلظت BA (میلی گرم در لیتر) BA concentration (mg l^{-1})	غلظت NAA (میلی گرم در لیتر) NAA concentration (mg l^{-1})				
		0	1	2	4	6
MS	0.0	62.75abc†	71.71a	75.36a	77.14a	77.66a
	0.5	49.97cd	51.61cd	60.83bc	61.82abc	62.18abc
	1.0	57.00bc	62.22abc	68.20ab	68.04ab	64.58ab
	1.5	57.57bc	61.65abc	64.19ab	61.38abc	63.03ab
	2.0	57.80bc	60.15bc	62.83ab	55.14bcd	60.14bc
	2.5	53.04bcd	59.67bc	55.20cd	57.44bcd	52.16bcd
	3.0	44.01cde	53.63bcd	59.37bc	33.84ef	23.85fg
B5	0.0	57.30bc	66.89ab	62.86ab	60.84bc	50.08cd.
	0.5	55.81bc	59.25bc	44.83cde	33.86ef	38.49def
	1.0	51.48cd	50.70cd	31.04ef	44.17cde	33.62ef
	1.5	46.36cde	45.75cde	33.91ef	21.94fg	25.00fg
	2.0	39.80de	42.54de	32.42ef	27.08fg	19.63g
	2.5	37.76def	39.72de	26.71fg	27.70fg	23.46fg
	3.0	36.71def	37.52def	27.79fg	18.66g	12.27h
SH	0.0	58.15bc	60.06bc	64.94ab	63.18ab	62.44abc
	0.5	47.02cd	55.88bc	60.15bc	54.66bcd	49.34cd
	1.0	46.89cde	45.42cde	52.63bcd	46.91cde	45.33cde
	1.5	45.88cde	41.28de	49.85cd	42.09de	26.33fg
	2.0	44.43cde	32.54ef	50.65cd	27.65fg	34.63ef
	2.5	25.87fg	29.99efg	37.87def	29.00efg	20.60g
	3.0	21.75fg	22.98fg	30.51efg	28.62efg	19.77g

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

در محیط کشت MS پایین ترین غلظت BA شامل ۰/۵ میلی گرم در لیتر همراه با غلظت های پایین NAA شامل ۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر موجب کاهش معنی داری در طول شاخساره ها شد (جدول ۳). افزایش غلظت BA از۱ تا ۲ میلی گرم در لیتر با کاربرد کمترین سطوح NAA در محیط کشت MS، میانگین طول شاخساره ها

را افزایش داد به طوری که در غلظت ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر NAA همراه با ۱، ۱/۵ و ۲ میلی گرم در لیتر BA تفاوت معنی داری با بلند ترین طول شاخساره ها در تیمار های بدون کاربرد BA با غلظت های مختلف NAA در محیط کشت MS وجود نداشت (جدول ۳). برهمکنش غلظت های بالای NAA شامل ٤ و ٦ میلی گرم در لیتر با سطوح پایین BA شامل ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر در محیط MS، کاهش ناچیزی در میانگین طول شاخساره ها داشت به طوری که تفاوت معنی داری مشاهده نگردید (جدول ۳). افزایش غلظت BA به میزان ۳ میلی گرم در لیتر در غلظت های ٤ و ٦ میلی گرم در لیتر NAA موجب کاهش طول شاخسارها با تفاوت معنی داری نسبت به شاهد در هر سه محیط کشت شد (جدول ۳).

میزان وزن تر شاخساره های تولید شده در برهمکنش محیط کشت های مختلف با تنظیم کننده های رشد BA و NAA نشان داد که در محیط کشت MS افزایش غلظت BA تا ۲ میلی گرم در لیتر موجب افزایش وزن تر شاخساره های تولید شده گردید و با افزایش غلظت BA به بیش از ۲ میلی گرم در لیتر وزن تر شاخساره ها کاهش یافت (جدول ٤). افزایش غلظت NAA در محیط کشت MS همراه با غلظت های ۰ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA موجب افزایش وزن تر شاخساره ها گردید. اما در غلظت های بالاتری از BA، افزایش وزن تر شاخساره با افزایش غلظت NAA تا غلظت ۲ میلی گرم در لیتر ادامه داشت و پس از آن میزان وزن تر شاخساره های تولید شده با افزایش غلظت NAA کاهش نشان داد (جدول ٤). در محیط کشت B5 افزایش غلظت BA به میزان ۱ میلی گرم در لیتر در برهمکنش با غلظت های کم به کار رفته NAA شامل ۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر موجب افزایش وزن تر شاخساره ها گردید. با افزایش میزان BA در غلظت های ۰، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر NAA وزن تر شاخساره ها کاهش یافت (جدول ٤). در غلظت های ٤ و ٦ میلی گرم در لیتر NAA در محیط کشت B5 بیشترین شاخص وزن تر شاخساره ها در برهمکنش با کمترین میزان BA شامل ۰/۵ میلی گرم در لیتر بدست آمد و افزایش غلظت BA موجب کاهش وزن تر شاخساره ها شد (جدول ٤).

در محیط کشت SH، کاربرد BA به همراه غلظت های مختلف NAA تاثیرهای متفاوتی بر وزن تر شاخساره ها داشت. بدین گونه که در غلظت صفر میلی گرم در لیتر NAA، افزایش وزن تر شاخساره ها با افزایش میزان BA تا غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر ادامه داشت و با غلظت بیشتر از آن وزن تر شاخساره ها کاهش یافت، اما با افزایش غلظت NAA، نیاز به غلظت های پایین تری از BA در محیط کشت SH برای افزایش وزن تر شاخساره ها مشاهده شد (جدول ٤).

جدول٤- برهمکنش محیط کشت های متفاوت با غلظت های مختلف تنظیم کننده های رشد بر شاخص وزن تر شاخساره ها (درصد) در پیرتروم.

Table 4. Interaction of different media and various growth regulator concentrations on shoot fresh weight index (per cent) of pyrethrum.

محیط کشت Medium	غلظت BA (میلی گرم در لیتر) BA concentration (mg l^{-1})	غلظت NAA (میلی گرم در لیتر) NAA concentration (mg l^{-1})				
		0	1	2	4	6
MS	0.0	68.09ef †	66.79efg	72.72cde	78.48abc	80.07ab
	0.5	68.18ef	70.09def	68.41ef	79.36abc	80.54ab
	1.0	72.43cde	82.79a	83.55a	82.33a	82.46a
	1.5	76.11bcd	84.44a	84.44a	84.48a	83.93a
	2.0	82.31a	84.62a	85.10a	84.99a	84.42a
	2.5	77.79bc	79.69abc	80.19ab	74.30cd	68.95def
	3.0	70.75de	73.61cd	73.69cd	63.45fgh	63.77fgh
B5	0.0	66.70efg	77.11bc	67.55efg	65.42fg	60.20ghi
	0.5	79.23abc	81.59ab	79.28abc	74.45cd	73.13cde
	1.0	82.50a	82.17ab	80.34ab	73.79cd	69.10def
	1.5	79.30abc	80.99ab	77.57bc	71.18de	68.66ef
	2.0	75.79bcd	80.27ab	70.73de	70.72de	66.74efg
	2.5	75.48bcd	79.43abc	70.58de	63.19fgh	65.16fg
	3.0	76.32bcd	77.69bc	64.87fg	63.14fgh	61.96gh
SH	0.0	63.54fgh	68.70ef	76.95bc	78.82abc	78.32abc
	0.5	68.76ef	76.98bc	81.12ab	79.82abc	74.58cd
	1.0	71.72de	81.79ab	78.32abc	78.00abc	74.37cd
	1.5	79.65abc	80.11ab	75.15bcd	76.04bcd	71.84cde
	2.0	72.79cde	76.61bc	74.74cd	76.01bcd	70.86de
	2.5	71.82cde	76.95bc	73.70cd	75.37bcd	70.66de
	3.0	71.49de	73.32cde	71.84cde	68.19ef	68.70ef

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ٥٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

ریشه زایی

ریشه‌زایی شاخساره‌ها در هر سه محیط کشت MS، B5 و SH با سطوح مختلف تنظیم کننده رشد NAA به دست آمد. محیط کشت های MS، B5 و SH بدون کاربرد NAA دارای کمترین درصد ریشه زایی با تفاوت معنی‌داری نسبت به محیط کشت های همراه با NAA شدند (جدول٥). در مقابل، در هر سه محیط کشت, تیمار شاهد موجب تولید بلندترین طول ریشه با تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارهای حاوی NAA شد (جدول ٦).

جدول۵- برهمکنش محیط کشت های متفاوت با غلظت های مختلف NAA بر میانگین تعداد ریشه در پیرتروم.

Table 5. Interaction of different media and different NAA concentrations on mean root number of pyrethrum.

غلظت NAA (میلی گرم در لیتر) NAA concentration (mg l^{-1})	محیط کشت Medium		
	MS	B5	SH
0.0	1.67e	1.33e	1.67e
0.5	4.67cd	5.33cd	5.33cd
1.0	9.33bcd	9.00bcd	10.00bc
1.5	10.33abc	10.00bc	12.67ab
2.0	14.33a	16.33a	13.33ab
2.5	11.33abc	10.33abc	10.67abc
3.0	10.00bc	8.33bcd	10.33abc
3.5	9.33bcd	5.67cd	9.67bc

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DNMRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

جدول ٦- برهمکنش محیط کشت های متفاوت با غلظت های مختلف NAA بر میانگین طول ریشه (میلی متر) در پیرتروم.

Table 6. Interaction of different media and different NAA concentrations on mean root length (mm) of pyrethrum.

غلظت NAA (میلی گرم در لیتر) NAA concentration (mg l^{-1})	محیط کشت Medium		
	MS	B5	SH
0.0	38.33ab †	44.00a	44.33a
0.5	28.67cd	35.33bc	33.67bc
1.0	24.00de	16.33efg	15.67efg
1.5	23.67de	15.00efg	13.33fgh
2.0	19.00ef	15.67efg	11.33gh
2.5	12.33fgh	9.67ghi	10.33ghi
3.0	9.00ghi	8.67hi	10.00ghi
3.5	5.33i	4.33i	5.33i

† Means in each column with similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DMNRT.

† در هر ستون، میانگین هایی که دارای حروف یکسانی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

افزایش غلظت NAA به میزان ۲ میلی گرم در لیتر در هر سه محیط کشت موجب افزایش تعداد ریشه های به وجود آمده شد. افزایش غلظت بیش از ۲ میلی گرم در لیتر NAA، کاهش درصد ریشه زایی را در بر داشت (جدول ۵). بیشترین تعداد ریشه ها در تیمارهای حاوی ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر NAA در محیط کشت

MS، ۲ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر NAA در محیط B5 و ۱/۵ تا ۳ میلی گرم در لیتر NAA در محیط کشت SH به دست آمد که تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ نسبت به سایر تیمارها نشان داد (جدول ۵). افزایش غلظت NAA برای هر سه محیط کشت MS، B5 و SH موجب کاهش طول ریشه های به دست آمده شد به گونه ای که در بیشترین غلظت NAA به میزان های ۲/۵، ۳ و ۳/۵ میلی گرم در لیتر با تفاوت معنی داری کوتاه ترین طول ریشه مشاهده شد (جدول ٦).

بحث

بر اساس داده های به دست آمده در این پژوهش، بیشترین تعداد، طول و وزن تر شاخساره‌ها در محیط کشت MS نسبت به محیط کشت B5 و SH مشاهده شد. نتیجه مشابهی با گیاه دارویی کاتارانتوس[۱] توسط سایر پژوهشگران (۱۵) به دست آمد که نشان دادند محیط کشت MS در مقایسه با سایر محیط کشت های به کار رفته بهینه تر می باشد. نتیجه آزمایش انجام شده در مورد کشت نوک شاخساره ارقام مختلف داوودی[۲] (۳) نیز نشان داد که محیط کشت MS همراه با ویتامین های محیط کشت خود در مقایسه با ویتامین های محیط کشت B5 به جای ویتامین های MS می تواند موجب پرآوری بیشتر شاخساره ها شود. در پژوهش‌های انجام شده روی پیرتروم، استفاده از محیط کشت پایه MS به تنهایی گزارش شده است (۱۱، ۱۲، ١٤، ۲۰). با توجه به نتایج این پژوهش کارآمد بودن محیط کشت MS در افزایش درون شیشه ای پیرتروم، به احتمال در ارتباط با مناسب بودن اجزا تشکیل دهنده این محیط کشت می باشد.

تاثیر مثبت کاربرد غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA همراه با غلظت های ۱/۵، ۲ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر BA و غلظت های ۱ و ٤ میلی گرم در لیتر NAA همراه با غلظت ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA در محیط کشت MS موجب افزایش پرآوری شاخساره‌های گیاه پیرتروم شد. در چند پژوهش انجام شده روی پیرتروم بهترین پرآوری شاخساره توسط هیتمی و همکاران[۳] (۸) در محیط کشت MS با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی گرم در لیتر BA، پال و دهار[٤] (۱۸) در محیط کشت MS تغییر یافته با غلظت ۲ میلی گرم در لیتر NAA، ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر کینتین[٥] و روست و بوکلمن[٦] (۲۰) در محیط کشت MS تغییر یافته تنها با BA در غلظت های بین ۱ تا ۱۰ میلی گرم در لیتر به دست آمد که تفاوت با این آزمایش را نشان می دهد. این تفاوت می تواند در رابطه با میزان مواد محیط کشت، غلظت تنظیم کننده های رشد، رقم مورد استفاده و شرایط پرورش باشد. هم چنین افزایش غلظت تنظیم کننده های رشد مورد استفاده در این پژوهش موجب کاهش تعداد شاخساره های تولیدی شد که با آزمایش های انجام شده روی پیرتروم و داوودی همسو می باشد (۳، ۸).

در این آزمایش بلند ترین میانگین طول شاخساره در تیمارهای بدون BA به دست آمد و با افزودن BA به محیط کشت طول شاخساره ها کاهش نشان داد. احتمال دارد که کاهش طول شاخساره ها به دلیل تاثیر BA بر افزایش تعداد جوانه های نابجا روی ریزنمونه و افزایش رقابت بین جوانه ها باشد، در حالی که در محیط کشت‌های بدون BA شاخساره ها به صورت تکی و یا با تعداد کمی شاخساره جانبی شروع به رشد نمودند و رقابت کمتری بین شاخساره ها مشاهده گردید. افزایش غلظت NAA در محیط کشت‌های بدون BA، متوسط

۱- *Catharanthus*

۲- *Dendranthema grandiflora* Tzvelev. (*Chrysanthemum morifolium* Ramat.)

۳- Hitmi *et al.*

٤- Pal and Dhar

٥- Kinetin

٦- Roest and Bokelmann

رشد طولی شاخساره‌ها را افزایش داد. آزمایش‌های انجام شده توسط کسکیتالو و همکاران[1] (۱۳) در مورد تاثیر NAA بر افزایش ارتفاع شاخساره پیرتروم و علف کرم[2] این مورد را تأیید می‌نماید. همچنین در تمامی محیط کشت‌های بدون تنظیم کننده رشد BA، ریشه زایی مشاهده شد، این در حالی است که در محیط کشت‌های حاوی کمترین غلظت BA هیچ گونه سرآغازه ریشه، به وجود نیامد، بنابر این به نظر می رسد که وجود BA در محیط کشت این گیاه به عنوان عامل بازدارنده ریشه‌زایی عمل می کند.

داده های این پژوهش نشان داد که محیط کشت MS با بیشتر غلظت های به کار رفته تنظیم کننده رشد به ویژه غلظت های ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۲ تا ٦ میلی گرم در لیتر NAA موجب افزایش وزن تر شاخساره ها شد. این نشان دهنده برهمکنش مثبت ترکیب های محیط کشت MS همراه با تنظیم کننده های رشد نسبت به محیط کشت B5 و SH می باشد. اما کاربرد بیش از ۲ میلی گرم در لیتر BA در هر سه محیط کشت با تمامی سطوح به کار رفته NAA به طور موثری موجب کاهش معنی داری در شاخص وزن تر شاخساره ها شد که با آزمایش‌های انجام شده توسط هیتمی و همکاران (۸) روی شاخص رشد پینه پیرتروم همسویی داشت. بنابراین می توان نتیجه گیری نمود که کاربرد غلظت های زیاد BA با تشدید رقابت بین جوانه های روی ریزنمونه موجب تاثیر بازدارندگی در رشد شاخساره ها شده است.

در گزارش‌های زیادی برای ریشه‌زایی درون شیشه‌ای پیرتروم و داوودی از محیط کشت بدون تنظیم کننده رشد و یا با تیمارهای تنظیم کننده رشد اکسینی استفاده شده است (۹، ١٤، ۱۸، ۱۹). در این پژوهش، شاخساره های تمامی سطوح آزمایش شده با استفاده از تنظیم کننده رشد NAA، صد در صد ریشه‌دار شدند، که با آزمایش‌های هیتمی و همکاران (۹)، کسکیتالو (۱۳) و پال و دهار (۱۸) مشابه بود. به نظر می رسد که ریز نمونه‌های به کار رفته، در محیط ریشه‌زایی دارای مواد درونی مورد نیاز انگیزش و تولید ریشه به میزان کافی باشند و استفاده از NAA می‌تواند یک عامل تشدید کننده یا تسریع کننده انگیزش ریشه‌زایی باشد.

در این پژوهش مشخص شد که کاربرد NAA تا غلظت ۲ میلی گرم در لیتر در هر سه محیط کشت موجب افزایش تعداد ریشه های تشکیل شده گردید. در مقابل طول ریشه ها با افزایش غلظت NAA کاهش معنی داری نشان داد. احتمال دارد که دلیل بلندتر بودن طول ریشه‌ها در غلظت‌های کم NAA و شاهد وجود کم سرآغازه‌های ریشه و در نتیجه رقابت کمتر برای رشد ریشه‌های تولید شده باشد، در حالی که افزایش غلظت NAA موجب افزایش سرآغازه‌های ریشه‌زایی و افزایش تعداد ریشه‌های در حال رشد می شود. بنابر این رقابت بین ریشه‌ها برای رشد و جذب مواد غذایی افزایش یافته و باعث کاهش میانگین طول ریشه‌ها شد. هم چنین تعداد ریشه های تشکیل شده بلندتر از ۳ میلی متر با افزایش غلظت NAA از ۲ میلی گرم در لیتر در هر سه محیط کشت کاهش نشان داد و این ممکن است به دلیل افزایش رقابت بین تعداد زیاد سرآغازه های ریشه زایی که به شکل قسمتی متورم در انتهای ساقه تشکیل شده، باشد.

سپاسگزاری

از همکاری های شادروان مهندس حمید آذرخش و سرکار خانم دکتر اختر شکافنده، به ترتیب کارشناس آزمایشگاه و استادیار بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز و نیز از مهندس داراب یزدانی رییس بخش گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی تهران، برای در اختیار گذاشتن گیاهان مورد استفاده در این پژوهش، سپاسگزاری می شود.

۱- Keskitalo *et al.* ۲- Tansy (*Tanacetum vulgare* L.)

REFERENCES منابع

۱- امیدبیگی، ر. ۱۳۷٦. رهیافت های تولید و فراوری گیاهان دارویی. جلد سوم. چاپ اول. انتشارات آستان قدس رضوی. ٤۰۰ ص.

۲- تورز، ک. سی. ۱۳۷۳. فنون کشت بافت برای گیاهان باغبانی. برگردان از مرتضی خوشخوی. چاپ اول. انتشارات دانشگاه شیراز. ٤۳۷ ص.

3. Annadana, S., W. Rademaker, M. Ramanna, M. Udayakumar and J.D. Jong. 2000. Response of stem explants to screening and explants source as a basis for methodical advancing of regeneration protocols for chrysanthemum. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 62:47-55.
4. Casida, J.E. 1973. Pyrethrum, The Natural Insecticide. Academic Press, Inc., New York U.S.A. 329p.
5. Crombie, L. 1980. Chemistry and biosynthesis of natural pyrethrins. Pestic. Sci. 11:102-118.
6. Gamborg, O.L., R.A. Miller and L. Oijma. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. Exp. Cell Res. 50:151-158.
7. Gupta, R. 2000. Developing models for corporate farming in aromatic crops sector in India. Retrieved from www.cimap.res.in./jmaps/ab_mar 2000_1.htm.
8. Hitmi, A., C. Barthomeuf and H. Sallanon. 1998. Rapid mass propagation of *Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis. by callus culture and ability to synthesis pyrethrins. Plant Cell Rep. 19:156-160.
9. Hitmi, A., H. Sallanon and C. Barthomeuf. 2001. Effects of plant growth regulators on the growth and pyrethrins production by cell cultures of *Chrysanthemum cinerariaefolium.* Aust. J. Bot. 49:81-88.
10. Jovetic, S. 1994. Natural pyrethrins and biotechnological alternatives. Biotechnol. Develop. Monit. 26:12-13.
11. Jovetic, S. and C.D. de Gooijer. 1995. The production of pyrethrins by *in vitro* systems. Crit. Rev. Biotechnol. 15:125-138.
12. Kaul, V., R.M. Miller, J.F. Hutchinson and D. Richards. 1990. Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev. (syn. *Chrysanthemum morifolium* Ramat.). Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 21:21-30.
13. Keskitalo, M.K. 1999. Exploring biodiversity to enhance bioactivity in the genus *Tanacetum* through protoplast fusion. Academic Dissertation. Helsinki, Finland. 112 p.
14. Keskitalo, M.K., E. Pehu and J.E. Simon. 2001. Variation in volatile compounds from tansy (*Tanacetum vulgare* L.) related to genetic and morphological differences of genotypes. Biochem. Syst. Ecol. 29:267-285.
15. Misawa, M. 1985. Plant Tissue Culture: An Alternative for Production of Useful Methabolite. FAO Agr. Ser. Bull. 108:25-37.
16. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiol. Plant. 15:473-493.
17. Mwamba, D. 1996. Ornamental, Drug, Fiber and Pesticide Crops. Rev Kenyan Agr. Res. Vol. 27. 47 p.
18. Pal, A. and K. Dhar. 1985. Callus and organ development of pyrethrum, (*Chrysanthemum cinerariaefolium* Vis.) and analysis of their cytological status. Pyrethrum Post 16:3-11.
19. Roberts, A. and E.F. Smith. 1990. The preparation *in vitro* of chrysanthemum for transplantation to soil. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 21:129-132.
20. Roest, S. and G.S. Bokelmann. 1973. Vegetative propagation of *Chrysanthemum cinerariaefolium in vitro*. Sci. Hort. 1:120-122.
21. Schenk, R.U. and A.C. Hildebrandt. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot. 50:199-204.
22. Thijssen, R. 1997. Natural insecticide pyrethrum. Ileia Newsletter 13:22-23.
23. Zito, S.W. and C.D. Tio. 1990. Constituents of *Chrysanthemum cinerariaefolium* in leaves, regenerated plantlets and callus. Phytochemistry 29:2533-2534.