

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

میترا امام<sup>۱\*</sup>، لیلیا میرجانی<sup>۲</sup>، طیبه سهیلا نراقی<sup>۳</sup>، هاشم کنشلو<sup>۴</sup>

\*۱- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، تهران پست الکترونیک memam@riff-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 با ارزش دارای اهمیت اقتصادی، دارویی و صنعتی است. تکثیر معمول گیاه از طریق بذر و قلمه می‌باشد. نظریه روغنی بودن بذر جاتروفا و پایین بودن قوه نامیه آن، از کشت جوانه برای تکثیر گیاه استفاده شد. برای ریزازدیادی گیاه، از جوانه‌های رأسی دانه‌های دو و چهارساله جاتروفا (ژنوتیپ ۱ و ۲)، در فصل‌های مختلف سال استفاده شد. ضد عفونی کردن سطحی نمونه‌ها، با استفاده از محلول کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ده دقیقه و در فصل پاییز انجام شد و این تیمار بالاترین میزان استقرار جوانه را برای ژنوتیپ ۲ به همراه داشت. بیشترین رشد طولی و تکثیر شاخه در محیط MS با ترکیب سیتوکینین BA و اکسین IBA در غلظت‌های به ترتیب سه و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. اثرعامل ژنوتیپ بر شاخه‌زایی معنی‌دار نبود ولی تأثیر ژنوتیپ ۲ بر صفات رشد بالاتر از ژنوتیپ دیگر بود. در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌دار شدن نمونه‌ها در تیمار محیط تغییر یافته MS دارای IBA در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به دست 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

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 به خاطر محصول بالای روغنش بوده است (Manjariet *al.*, 2007). روغن این گیاه می‌تواند به عنوان سوخت در موتورهای دیزلی و نیز در برخی اهداف مهم صنعتی و

جنگل‌ها، سرمایه‌های ملی هر کشور محسوب می‌شوند که حفاظت و استفاده صحیح از آنها، علاوه بر کسب درآمد، بقای محیط زیست را نیز تضمین می‌کند. نظر به کمبود منابع انرژی در جهان به خصوص در کشورهای توسعه یافته، توجه خاصی به منابع انرژی تجدیدپذیر قابل دسترس در این کشورها شده است. یکی از مهم‌ترین این منابع انرژی

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 آرتريت، شیره آن برای التیام زخم و جراحات‌های پوستی و آلرژی‌های تنفسی و لوکودرما، دم‌کرده برگ آن برای مداوی 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 فوس 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 می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این تحقیق عبارت از جوانه‌های رأسی دانه‌های 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 ظرفشویی، 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 ۰/۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور ثابت فرض شد و این عملیات در طی سه واكشت 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 ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به‌طور ثابت فرض شد و سایر شرایط آزمون از نظر تعداد تکرارها، شرایط کشت و تناوب زمانی واكشت‌ها نظیر آزمون اول بود (جدول ۲).

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

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

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

تنظیم کننده‌های رشد		اکسین (mg/l)		سیتوکینین (mg/l)		محیط و تیمار
		IBA		GA		
		۰/۰۱	۱/۵	۳	۲iP	
		2iP		۳		
T1, MS	+	+	-	+	-	
T2, MS	+	-	+	+	-	
T3, MS	+	-	-	+	+	
T4, MS	+	-	-	+	-	
T5, DKW	+	+	+	+	-	
T6, DKW	+	-	+	+	-	
T7, DKW	+	-	-	+	+	
T8, DKW	+	-	-	+	-	

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

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

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

G1, G2 علامت ژنوتیپ ۱ و ۲ می‌باشد.

هورمونی IBA و NAA در غلظت‌های 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.

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 (جدول ۳).

### 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

جدول ۴- تیمارهای مختلف ریشه‌زایی درون شیشه

NAA + IBA	IBA	NAA	تنظیم‌کننده‌های رشد (mg/l)		تیمار
			۰/۵	۱	
۰/۳+۰/۳	۱	۰/۵	۱	۰/۵	
-	-	-	-	+	تیمار ۱
-	-	-	+	-	تیمار ۲
-	-	+	-	-	تیمار ۳
-	+	-	-	-	تیمار ۴
+	-	-	-	-	تیمار ۵

### نتایج

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).

در فصل بهار (جدول ۵) تیمار پنج دقیقه غوطه‌وری در محلول مورد استفاده در سترون‌کردن نمونه‌ها و در فصل تابستان (جدول ۶) به همان ترتیب 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 (جدول ۷).

جدول ۵ - تأثیر تیمارهای مختلف ضد عفونی بر درصد استقرار جوانه‌های جاتروفا در فصل بهار

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

جدول ۶ - تأثیر تیمارهای مختلف سترون‌سازی بر درصد استقرار جوانه‌ها در فصل تابستان

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

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

زمان ضد عفونی با محلول کلریدجیوه ۰/۱ درصد	درصد استقرار	درصد نکروزگی	درصد آلودگی
ژنوتیپ ۱، ۸ دقیقه	۸۰	۱۶	۴
ژنوتیپ ۱، ۱۰ دقیقه	۹۲	۱	۷
ژنوتیپ ۲، ۸ دقیقه	۶۹	۳۰	۱
ژنوتیپ ۲، 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 سبزیگی برگ ریزنمونه‌های

## جاتروفا با تیمارهای آزمون اول

منابع تغییر	درجه آزادی	رشد طولی	شاخه‌زایی	جوانه‌زایی	سبزیگی برگ
محیط کشت	۷	۲/۵۶**	۲/۱۰۸۰**	۴/۵۷**	۰/۷۵۴ <sup>ns</sup>
خطا	۱۴	۰/۴۳	۰/۵۴	۱/۲۴	۰/۳۳۱

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ و ns: بدون معنی

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

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

مقایسه و دسته‌بندی میانگین‌ها به روش 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 سبزیگی برگ ریزنمونه‌های جاتروفا با تیمارهای آزمون دوم

سبزیگی برگ	جوانه زایی	شاخه زایی	رشد طولی	درجه آزادی	منابع تغییر
۰/۲۷ <sup>ns</sup>	۴/۶ <sup>**</sup>	۰/۴۹۳ <sup>ns</sup>	۰/۱۳۳ <sup>ns</sup>	۷	تیمار
۰/۳۸	۰/۵۲۴	۰/۲۶۷	۰/۱۳۳	۱۴	خطا

\* و \*\*: به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ و NS: بدون معنی

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

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

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 (جدول ۱۰). 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.

جدول ۱۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس صفات ضریب ازدیاد شاخه و جوانه، رشد طولی و سبزیگی شاخه تحت تأثیر محیط کشت و ژنوتیپ (آزمون سوم)

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

\*\* معنی‌دار در سطح ۰/۰۱ \* معنی‌دار در سطح ۰/۰۵<sup>ns</sup> بدون معنی

جدول ۱۲ نشان‌دهنده تجزیه واریانس شاخص‌های رشدی تحت تأثیر محیط کشت و ژنوتیپ است به‌طوری‌که تأثیر هر یک 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 (جدول ۱۳). گیاهان حاصل از کشت بافت پس از انتقال به خاک گلدان و در شرایط گلخانه‌ای

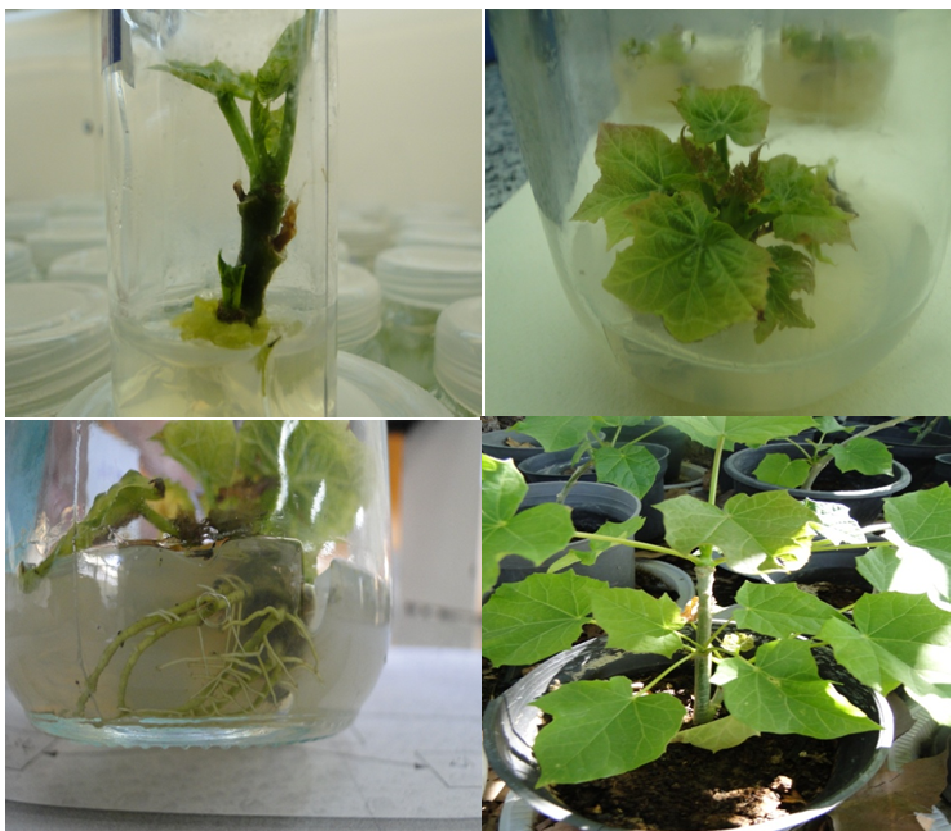
سازگار شدند (شکل ۱).

در مرحله ریشه‌زایی، بیشترین میزان ریشه‌دار شدن نمونه‌ها در تیمار مربوط به IBA در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌دست آمد (جدول ۱۳). 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	۰/۳+۰/۳
درصد ریشه‌زایی	۹/۱c	۱۲/۲b	۵d
درصد نکروزگی	۴۳/۳d	۷۶/۶a	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.



شکل ۱- مراحل ریزازدیادی گیاه جاتروفا به ترتیب 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 ظرفشویی و اتانل در حذف زوائد سطح جوانه و لایه مومی سطح کوتیکول موثر بود و آلودگی‌های سطحی را تا حد امکان به حداقل 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 کلرید جیوه 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) به دست آمد. ضمن اینکه BA از جمله تنظیم‌کننده‌های محرک رشد و تکثیر شاخه با قدرت ماندگاری بالا بوده و در غلظت‌های نسبتاً بالای این هورمون، رشد شاخه‌های جانبی گیاهان به دست می‌آید که به دلیل ذخیره شدن این هورمون در جوانه‌های جانبی گیاه است (Evers, 1988). در همین زمینه Aderkas و Bonga (۱۹۹۲) نیز نتیجه گرفتند که تیمار سیتوکنین به همراه 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 به دست آوردند. مشابه بررسی اخیر Sujatha و همکاران (۲۰۰۶) نیز رشد جوانه‌های رأسی را بر همان محیط با



### منابع مورد استفاده

- Bonga, J.M. and Von Aderkas, P., 1992. *In vitro* culture of trees. In: Forestry Science Book, Vol. 38, Kluwer Academic Publishers, 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.
- هورمون BA در غلظت سه و IBA در غلظت یک میلی گرم در لیتر به دست آوردند. در تحقیق دیگری Datta و همکاران (۲۰۰۷) تکثیر درون شیشه‌ای گیاه هفت ماهه جاتروفا را از قطعات گره‌ای بر محیط MS با ۲۲/۲ میکرومول BA و ۵۵/۶ میکرومول آدنین سولفات به دست آوردند. ریشه‌زایی نیز در همان محیط با یک میکرومول IBA حاصل شد. همچنین Singh (۲۰۱۰) در محیط کشت MS با BA و Kin یک میلی گرم در لیتر به شاخه‌زایی و در ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بعد از پنج هفته به ریشه‌زایی رسید. برای تحریک ریشه‌زایی در این تحقیق از پیش تیمار محیط کشت بدون هورمون استفاده شد، زیرا تجمع فلاونوئیدها به وسیله اکسین، منجر به تشکیل ریشه شده که این اتفاق در حضور سیتوکنین صورت نمی‌گرفت. نتایج مربوط به مرحله ریشه‌زایی حاکی از نتیجه مناسب در تیمار هورمونی یک میلی گرم در لیتر IBA و در محیط کشت MS با نصف غلظت از املاح پرمصرف بود. در تحقیق دیگری Dalal و Rai (۲۰۰۴) ریشه‌زایی را در محیط LS و IBA سه درصد و هفت روز دوره تاریکی به دست آوردند. هورمون IBA به طور گسترده برای ریشه‌زایی گونه‌های چوبی که به سختی ریشه‌دار می‌شد به کار می‌رفت (Rathore, et al., 2007). در ضمن Dalal و Rai (۲۰۰۴) اشاره داشتند که کاهش نمک‌های معدنی موجود در محیط کشت، در تسهیل مرحله انتقال گیاهان کشت بافتی به خاک و سازگاری آن‌ها مؤثر می‌باشد. همچنین Chalupa (۱۹۸۷) تأثیر هورمون‌های خانواده اکسین از جمله IBA و NAA و یا ترکیبی از این دو هورمون را بر ریشه‌زایی گونه‌های مختلف جنگلی، مثبت ارزیابی کرد. بر این اساس، در این تحقیق نیز از این هورمون‌ها به صورت مجزا و همچنین تلفیقی استفاده شد ولی نتیجه چندان رضایت‌بخش نبود. Manjari و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی بر گیاه مزبور ریشه‌زایی را با میانگین ۵۲ درصد در محیط نصف غلظت MS و یک میکرومول IBA به دست آوردند.

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

M. Emam\*<sup>1</sup>, L. Mirjani<sup>2</sup>, T. S. Naraghi<sup>3</sup> and H. Keneshloo<sup>4</sup>

1\* - Corresponding author, Assist. Prof., Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, I.R.Iran, Email:memam@riff-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<sub>2</sub> 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.