روش کشت تخمدان بالغ در تکثیر جنسی
گیاه *Argania spinosa* L. Skeels

علی جعفری مفیدآبادی[1] *و علی اقتصادی*[1]

چکیده

روش درون‌شیشه‌ای کشت تخمدان به‌منظور تولید گیاه *Argania spinosa* L. skeels و افزایش درصد جوانه‌زنی بذور آن به کار گرفته شد. ضدعفونی سطحی بذور با اتانول ۷۰% شستشو با آب مقطر استریل انجام شد. تخمدانها پس از حذف درون بر (اندوکارپ) سخت میوه ایزوله شده است. تخمدانها پس از ضد عفونی سطحی در قالب دو تیمار، کامل و برش‌دار شده در محیطهای کشت جامد WPM ، MS و Half-M کشت شدند. بیشترین درصد جوانه‌زنی جنین در قالب کشت تخمدانهای برش‌دار شده در همه محیطهای کشت مورد استفاده اتفاق افتاد (٦٣/٦٢%). علیرغم اینکه بالاترین درصد جوانه‌زنی جنین در محیط کشت MS مشاهده شده است (٤٩/٥٢ %) لیکن اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های مختلف کشت در درصد جوانه‌زنی جنین در هر دو شیوه کشت تخمدانهای سالم و برش‌دار شده دیده نشده است. گیاهان حاصل پس از انجام موفق سازگاری تدریجی به گلخانه انتقال یافتند.

واژه‌های کلیدی: کشت تخمدان، *Argania Spinosal* . Skeels، تکثیر و بذر

---

۱ – موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران، صندوق پستی ۱۱۶ - ۱۳۱۸۵

مقدمه

درخت Argan (*Argania spinosa*(l.) skeels) از خانواده spaotaceae یک گونه بومی همیشه سبز در جنوب شرقی کشور مراکش می‌باشد که مساحت بالغ بر ۳۲۰۰۰۰ مایل مربع را در این کشور، تحت پوشش دارد. از گونه‌های درختی مقاوم به شوری و خشکی است و بصورت درخت متوسط قامت در شمال آفریقا نیز کشت می‌گردد و روش تکثیر آن در مناطق تحت رویش از طریق کاشت بذور انجام می‌گیرد. روش تکثیر آن از طریق کشت بافت توسط (Nouaim و همکاران، ۱۹۹٤) گزارش شده است. میوه دارای پریکارپ تند که اطراف یک پوسته با ساختار سخت شبه سنگی حاوی یک الی سه کرنل (Kernel) با بیش از ۵۰ درصد روغن، را احاطه نموده است (Charrouf، ۱۹۹۸).

تولید بذور و روغن آن برای مصرف خوراکی است. برگها و میوه‌ها برای تغذیه حیوانات مورد استفاده قرار می‌گیرد. قسمت خوراکی (مغز) میوه حاوی ۱۰٪ پروتئین و ۷٪ فسفر که بوسیله یک پوسته سخت و چوبی به رنگ زرد مایل به قهوه ایی احاطه شده است. بذور کوچک پس از له شدن، روغن آن استخراج می‌گردد. وجود درونبر (اندوکارپ) سخت در اطراف کیسه تخمدان، موجب کاهش درصد جوانه‌زنی جنین می‌گردد (Charrouf و Dube.،۲۰۰۰). به‌منظور تکثیر و معرفی این گونه به مناطق خشک و شور و انجام مطالعات سازگاری در کشور و تسریع جوانه‌زنی و افزایش راندمان (بازده جوانه‌زنی) در تهیه نهالهای این گونه، در قالب کشت تخمدان انجام شد.

مواد و روشها

بذور این گیاه *Argania spinosa* از بانک بذور باغ گیاه‌شناسی ایران تهیه شده است. ضدعفونی سطحی بذور با الکل اتانول ۷۵٪ به مدت یک دقیقه و شستشو با آب مقطر استریل به مدت ۵ دقیقه انجام شد. قسمت درون بر (اندوکارپ) تحت

شرایط استریل حذف و تخمدان‌ها ایزوله شد. ضدعفونی تخمدانها به مدت ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت کلسیم ۳:۱ حاوی ۲ الی ۳ قطره Tween 20 انجام شد. کشت جنین در قالب کشت تخمدان صورت گرفت. جهت جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای تخمدانها به دو صورت، جدا کشتهای سالم و شکافدار، به محیط کشت جامد MS، Half-MS[1] و WPM[2] فاقد هورمون‌های رشد گیاهی حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز منتقل شدند. هر واحدهای آزمایشی از شیشه‌های کوچک (ویال) حاوی محیطهای کشت مختلف به همراه یک عدد تخمدان کشت شده در آن، تشکیل شد. تعداد تکرار برای هر یک از تیمارهای مستقل پنج عدد انجام شد. نمونه‌ها در اطاق رشد با ۱۶ ساعت روشنایی و با شدت ۵۰۰۰-۴۵۰۰ لوکس‌که توسط لامپهای فلورسنت مهتابی و آفتابی نگهداری شدند.

نتایج وبحث

جوانه‌زنی جنین سه هفته پس از کشت تخمدانهای شکاف دار شده در هر سه نوع محیطهای کشت مورد استفاده آغاز شد (شکل شماره ۱). درحالیکه تخمدانهای بدون برش (کامل) اندکی پس از کشت متورم شده و خروج جنینهای جوانه زده در داخل آن با تاخیر زمانی و با افت درصد جوانه‌زنی همراه بود. جوانه‌زنی جنین در تمامی محیط کشت به‌کار گرفته شده در جدا کشتهای شکاف‌دار شده با بازده قابل ملاحظه‌ای اتفاق افتاده است. نتایج حاصل از تجزیه داده‌های مربوط به اثرات محیطهای کشت Half-MS , WPM و MS در جوانه‌زنی جنین نشان داد که اختلاف معنی‌داری برای درصد جوانه‌زنی جنین بین محیطهای کشت بکار گرفته وجود ندارد. علیرغم عدم اختلاف معنی‌دار بین محیطهای کشت مزبور، محیط کشت MS حاوی ۳ گرم در لیتر ذغال فعال بیشترین درصد جوانه‌زنی جنین (۴۹/۵) و محیط کشت

1 - Half concentrated Murashige and Skoog
2 - Woody Plant Medium

Half-MS ، کمترین درصد جوانه‌زنی جنین (۳۶/۳۲) را داشته‌اند (جدول شماره ۱). عدم تاثیر نوع و غلظت عناصر موجود در محیطهای کشت بکارگرفته در میزان جوانه‌زنی و وابستگی آن به سن جنین (تعداد روزهای پس از گرده‌افشانی) در گونه‌های درختی نظیر سرخدار توسط Flores و همکاران (۱۹۹۳) و در صنوبر توسط جعفری و همکاران (۱۹۹۸) و جعفری و مدیر رحمتی (۲۰۰۰) گزارش شده است. تجزیه داده‌های حاصل از اثرات نوع جداکشت در توان جوانه‌زنی جنین بیانگر وجود تفاوت معنی‌داری به لحاظ متوسط درصد جوانه‌زنی بین جدا کشت (کیسه تخمدان) سالم و شکاف‌دار شده می‌باشد. (جدول شماره ۱). ظهور گیاهچه (ریشچه و ساقچه) از درون کیسه تخمدان سالم اغلب با مشکل روبرو بود و موجب متورم شدن آن و دفرمه شدن گیاهچه و قهوه‌ای شدن و از بین رفتن آنها شد. ۳۲/۵ % تخمدانهای فاقد برش کشت شده در صنوبر در طرح نجات جنین نیز پس از دو هفته از زمان کشت قهوه‌ای و از بین رفتند (جعفری و همکاران، ۱۳۷۸). در مواردی شکاف خودبخود در حاشیه کناری کیسه تخمدان کشت شده موجب خروج ناهماهنگ ریشچه و ساقچه شد که موجب رشد رویشی نامناسب گیاهچه‌ها می‌گشت. رشد نامتعادل گیاهچه در مورد درختان آلبالو (Sour Cherry) توسط Furokawa و Bukova (۱۹۸۹) درخت زردآلو (apricot) توسط Eaton و Jamont (۱۹۹۲) گزارش شد. به نظر می‌رسد که وجود پوسته سخت چوبی، موجب کاهش درصد جوانه‌زنی بذور در روش کاشت مستقیم در خاک این گیاه می‌باشد. نیاز به مدت زمانی نسبتا طولانی جهت نرم شدن بافت برون بر چوبی ضخیم، اغلب زوال تدریجی و پوسیدگی تخمک و محتوی سلولی داخل آن در اثر نفوذ آب و عوامل بیماری‌زا نظیر قارچ *Fusarium oxysporum* را سبب می‌شود (Mizrahi و Nerd، ۱۹۹۶). مشابه همین پدیده در کاشت کیسه تخمدان سالم بدون برش در کشت درون‌شیشه‌ای آن شده است که اغلب موجب عدم تعادل رشد ریشه و ساقه و در نهایت دفرمه شدن گیاه می‌شود. لذا روش نجات جنین در قالب کشت تخمدان شکافدار شده به‌منظور افزایش بازده تولید نهالهای بذری

پیشنهاد می‌شود (تصویرشماره ۲). کشت تخمدانهای شکاف‌دار شده در روش نجات جنین برای تولید دورگهای بین گونه‌ای توسط جعفری مفیدآبادی و همکاران (۱۹۹۸ و ۲۰۰۰) در صنوبر با موفقیت انجام شد. استفاده از محیط‌های کشت MS,WPM و half-MS در تغذیه مصنوعی جنین به‌منظور تولید دورگهای بین گونه‌ای در صنوبر توسط جعفری و همکاران ۱۹۸۹ و ۲۰۰۰ و در تکثیر جنسی گیاه *Ginkgo biloba* توسط Kwant (۱۹۹۷) گزارش شده است. اضافه نمودن هورمونهای رشد گیاهی به محیطهای کشت مزبور جهت تحریک توان رشد جنین وجوانه‌زنی آن در بعضی موارد موجب تغییر در روند رویشی گیاهچه‌ها شده است و مشکلاتی در هدف اولیه طرحها ایجاد نمود.

جدول شماره ۱. مقایسه اثرات محیط‌های کشت و نوع جداکشت بر روی میانگین درصد جوانه‌زنی جنین درون‌شیشه‌ای گیاه آرگانیا با استفاده از آزمون کای اسکور

متغیرها	متوسط درصد جوانه‌زنی جنین
تخمدان سالم	۲۲/۰۹**
تخمدان شکاف‌دار شده	۶۳/۶۲
Half-MS	۳۶/۳۲ns
MS	۴۹/۵۲
WPM	۳۸/۳۶

ns = عدم اختلاف معنی‌دار ** = اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد

شکل شماره ۱: جوانه‌زنی جنین دو هفته پس از کشت در محیط کشت MS

شکل شماره ۲: رشد رویشی گیاه *Argania spinosa*(l.) skeels گلخانه

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از ارائه اطلاعات و تامین بذر مورد نیاز توسط آقایان قهرمانی و محمدی منش از همکاران باغ گیاهشناسی صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

منابع

جعفری مفیدآبادی، ع، ع، مدیر رحمتی، ا، توسلی، ف، کاظمی، م، کلاگری و ف، اسدی ۱۳۷۸. کاربرد تکنیک نجات جنین (کشت تخمدان و تخمک) در دورگ‌گیری بین گونه‌ای صنوبر. . فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۴۳: ص ۳۸-۴۲

Charrouf، Z. 1998. Ethnoeconomical, Ethnomedical and phytochemical study of *Argania spinosa* L. Skeels: a Review. Journal of Ethnopharmacology. 1:1-9.

Charrouf، Z. and S. Dube، 2000. Helping Moroccan women preserve the argan tree at the gateway to the Sahara. Reports from Science the from developing World. (1-4).

Eaton, G.W. and A.M. Jamont, 1992. Embryo sac development in the apricot, Prunus armeniaca L.cv. Constan. Horticultural Science 86:95-101.

Flores، T., L.P.Wanger and H. Flores، 1993. Embryo culture and Taxane production in *Taxus* spp. *In vitro* Cell Dev. Biol. 29:160-165.

Furokawa, Y. and M.J. Bukova, 1989 Embryo sac development in sour cherry during the pollination period as related to fruit set.Hort Science 24: 1005-1013.

Jafari Mofidabadi، A. and A. R. Modir-Rahmati, 2000. Production of Populus euphratica Oliv. x P.alba L. hybrid poplars through ovary and ovule cultures. Plant Genetic Resources Newsletter, 122: 13-15.

Jafari Mofidabadi A., A. R. Modir-Rahmati and A. Tavesoli, 1998. Application of ovary and ovule culture in Populus alba L. x P. euphratica Oliv. hybridization. Silvae Genetica 47; 332-334.

Kwant، C. 1997. Sexual propagation of Ginkgo biloba. American Journal of Botany 84(6): 870-872.

Mizrahi، Y. and A. Nerd. 1996. New crops as a possible solution to the troubled Israeli export market. In. Janick J. and Simon J.E. (eds). Progress in New Crops: Proceeding of the Third National New Crops Symposium. American Society of Horticultural Science. P. 56-64.

Nouaim، R., M. Lineres, J.M. Esvan، and R. Chaussodd،1994. Mycorrhizal dependency of micropropagated argan tree. Agroforestry systems 27: 666-67

Sexual propagation of *Argania spinosa* L. Skeels using ovary culture

Jafari-Mofidabadi[1] *A. and Eghtesadi*[1] *A.*

Abstract

In order to propagate *Argania spinosa* L. skeels, developed ovary culture were used. Seed with hard coat were sterilized with 70% of ethanol and rinsed with sterile water. Hard coat was aseptically removed and ovary was isolated. Two type of Isolated ovary (complete and cut ovary explants), were cultured into the solidified MS, WPM and half-MS (half-concentrated MS medium) for embryo germination. Highest embryo germination was observed in cut ovary explant culture (63/62%). In spite of no significant differences between media for embryo germination, MS medium produced highest embryo germination for both kind of explants (49/52%). Plantlets were successfully acclimatized and transferred to the greenhouse.

Key Words: Ovary Culture، *Argania Spinasa* L.Skeels, Propagtion and seed

1 - Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, P.O.Box 13185 –116.