تکثیر درون شیشه‌ای درخت نوش (*Thuja orientalis L.*) از طریق سرشاخه‌های آن

میترا امام[1]

چکیده

درخت نوش از گونه‌های مهم و اقتصادی در میان سوزنی برگان موجود در ایران می‌باشد که به‌دلیل ظاهر زیبا و برگهای همیشه سبز خود در میان گیاهان زینتی و نیز به‌دلیل داشتن چوب سبک، کم‌وزن و مقاوم به پوسیدگی، در میان درختان جنگلی از جایگاه و اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. با توجه به مشکل اساسی تکثیر سوزنی برگان از طریق قلمه‌زنی (ریشه‌دهی سخت آنها) و نیز این واقعیت که ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه و برگ با بالا رفتن سن درخت کاهش می‌یابد، اهمیت تکثیر درختان بالغ نوش از طریق روشهای ریزازدیادی برجسته‌تر می‌شود.

جوانه‌های انتهایی از پایه‌های نوش بالغ الیت در قزوین و پایه جوان از نهالستان مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع در فصول مختلف سال، جمع‌آوری و بعد سترون شدند. در شستشو از آب و مایع ظرفشویی و برس‌کشی با محلول اتانل ۷۰٪ به‌عنوان پیش تیمار سترون سازی و از غوطه‌وری نمونه‌ها در اتانل ۷۰ ٪ به‌مدت ۱ دقیقه و آنگاه شستشو با محلول کلرور مرکوریک ۰/۱٪ در زمانهای مختلف (٤ دقیقه در مورد نمونه‌های بهاره و ٦ دقیقه برای نمونه‌های تابستانه و ۹ دقیقه در مورد نمونه‌های پاییزه) به‌عنوان بهترین تیمار سترون‌سازی، استفاده شد. جوانه‌ها در محیط کشت DKW با هورمون (2iP) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر استقرار یافتند. بعد برای مرحله شاخه‌زایی از سه محیط کشت MS، DKW و SH و هورمون BA و 2iP با غلظتهای

---

۱ – عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، تهران صندوق پستی۱۱٦ – ۱۳۱۸۵

مختلف از ۰ تا ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر از به‌طور مجزا و با هم، به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم برلیتر IBA ، استفاده گردید. پس از دو بازکشت ماهیانه، داده‌های مربوط به میانگینهای شاخه‌زایی، جوانه‌زنی و رشد طولی بدست آمده از سه محیط کشت فوق پس از تجزیه واریانس دو عاملی، مورد مقایسه قرار گرفتند. محیط کشت DKW با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر هورمون2iP و ۰/۰۱ میلی‌گرم برلیتر هورمون IBA، بیشترین مقدار شاخه‌زایی (۸۳ درصد) را نشان داد و به‌عنوان مناسب‌ترین محیط کشت تکثیر شاخه برای این گونه انتخاب شد. ریشه‌زایی از شاخه‌های مزبور در محیط کشت DKW حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA (۳۳ درصد) بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: کشت سرشاخه‌ای، نوش، تکثیر درون‌شیشه‌ای، کشت بافت، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی.

مقدمه

درخت نوش *(Thuja orientalis)* در شمال کشور، سور یا ثمر و در تهران سرو تبری نامیده می‌شود، واریته پاکوتاه و متراکم آن سرو خمره‌ای و در خوزستان، فارس و اصفهان، نوش نام دارد (ثابتی، ١٣٤٤).

این درخت یا درختچه یک پایه به ارتفاع ۱۰ متر با شاخه‌های جوان پهن شده و مقطع بیضی – خطی می‌باشد، برگها فلسی، متقابل، مثلثی و دارای نوک کند با یک شیار و کیسه صمغی در سطح پشتی است. مخروطهای نر انتهایی، میوه جانبی با فلسهای چوبی غیر سپری که در سال اول تشکیل می‌رسد و فلسها باز، دانه‌ها به تعداد ۲ تا ۳ عدد در هر فلس، بدون بال یا بالدار می‌باشد (اسدی، ١٣٧٦).

این درختان، گروهی از مخروطیان همیشه سبز با برگهای کوچک فلسی شکل هستند که به‌طور مشترک (cedar) خوانده شده و به تیره سرو (Cupressaceae) منتسب می‌باشند. درخت نوش، بومی آسیای معتدل و چین است. در ایران، بیشه‌ای از آن در

محل سورکش دره کتول گرگان و چندین پایه نیز در جنگلهای اطراف سنگده مازندران دیده می‌شود (ثابتی، ۱۳٤٤). پایه‌های مسن نوش بر شیبهای تند قرار داشته و به‌خوبی تجدید حیات می‌نمایند. احتمالاً این منطقه، باقیمانده از منطقه انتشار وسیع این گونه در دوران سوم زمین‌شناسی می‌باشد که به‌صورت لکه‌هایی در شمال ایران و در پناهگاههای مناسب به حیات خود ادامه داده است (اسدی، ۱۳۷٦). به‌علاوه دو پایه کهنسال آن در دشت قزوین دیده شده که بالای ۱۵۰ سال سن دارند (کروری، ۱۳۷٦).

نوش، درختی بردبار و کم‌نیاز و با فرمهای متعدد زینتی است. تاکنون بیش از بیست واریته آن که از نظر ارتفاع و فرم تاج و انبوهی یا تنک بودن انشعابهای برگ و وجود برگهای ابتدایی و سوزنی متفاوت می‌باشد، یافت شده است. این گونه، باارزش و دارای اهمیت اقتصادی می‌باشد، به‌طوری‌که از چوب نوش که بسیار سبک و مقاوم به پوسیدگی است، برای قایق و ساختمان سازی استفاده می‌شود (ثابتی، ۱۳٤٤). درخت نوش در تمام خاکها رشد می‌نماید و در شرایط نامساعد، انشعابهایش کبودرنگ می‌شود. نوش، درختی بسیار قوی با رشد رویشی سریع می‌باشد. انشعابهای آن بادبزنی و دوتایی است و به راحتی هرس می‌شود و می‌توان آن را به شکل پرچین پرپشتی درآورد. تولید غیرجنسی طبیعی آن با ریشه‌دهی از قاعده شاخه‌ها بوده و کاربردهای آن، تولید پشتیبان برای جنگلکاری تجارتی و استفاده زینتی از چوب وکاربرد چشم‌انداز تجارتی با تکثیر از طریق بذر می‌باشد (Aboel -Nil،۱۹۸۷).

از کشت پوست ساقه درخت بالغ *Western red cedar (Thuja plicata)* بر محیط Harvay با گلوکز و مخلوطی از اسیدآمینه‌ها و NAA[1] کالوس بدست آمده است (Harvay و Grasham ، ۱۹٦۹). روشهای ریزازدیادی موفق درختان جوان و بالغ گونه مزبور به وسیله Thorpe و Coleman در ۱۹۷۷، در ٤ مرحله توصیف شد: تحریک

1- NAA: Naphty – Acetic - Acid

مریستموئیدی، تمایز جوانه، تبدیل جوانه به شاخه و ریشه‌دهی شاخه. تکثیر در شیشه از بافتهای جوان و بالغ با جوانه‌زنی نابجا در محیط MS، انجام شد. گیاهچه‌های درون شیشه‌ای شکل بهتر و جوانتری از قلمه‌های ریشه‌دار داشت. ریزنمونه‌های لپه (cotyledon)، تولید برجستگیهایی در محیط نموده و جوانه‌ها روی سطح مریستموئیدهای برجسته تشکیل گردیدند. این جوانه‌ها بعد از ٤ تا ٨ هفته طویل شده و ریشه‌دهی آنها در حضور IBA[1] تحریک شده و بعد نمونه‌ها به مخلوط پیت و ورمیکولیت منتقل گردیدند. این شاخه‌های ریشه‌دار در گلخانه رشد کرده و برگهای فلس مانند بالغ مشابه با نهال بذری از طریق جنسی تولید شده، را تشکیل می‌دهند. سرشاخه‌های جانبی درختان بالغ بعد از ٦ تا ٨ هفته در محیط MS تحریک شده و جوانه‌های جانبی و نابجای متعدد را تشکیل دادند. این جوانه‌ها طویل و ریشه‌دار شده و نحوه رشدشان مشابه رشد طولی شاخه‌های جوان از کشتهای لپه بود. در تکثیر، شاخه‌های(*T. occidentalis*) با GA_3 تحریک شدند، اما این شاخه‌ها قهوه‌ای گردیدند (Harry و همکاران، ۱۹۸۷).

قلمه‌های ساقه و برگ دارای توانایی بالای ریشه‌دهی می‌باشند که با بالا رفتن سن درخت کاهش می‌یابد (Coleman وThorpe، ۱۹۷۷)، بنابراین تکثیر غیر جنسی پایه‌های مسن جنگلی از طریق کشت بافت می‌تواند بسیار ارزشمند باشد. هدف از این تحقیق تکثیر درون شیشه‌ای گونه نوش (*Thuja orientalis*) از طریق کشت سرشاخه می‌باشد که برای اولین بار در ایران و جهان صورت می‌گیرد.

1- IBA: Indol Butyric Acid

مواد و روشها

سرشاخه‌های درختان نوش واقع در قزوین (پایه بالغ برگزیده با سن تقریبی بالای۱۵۰ سال) و پایه‌های موجود در نهالستان مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع (با حدود ۵ سال سن)، درفصول بهار، تابستان و پاییز جمع‌آوری شدند. نمونه‌گیری اولیه از نهالهای نوش موجود در نهالستان مؤسسه انجام شد و عملیات سترون‌سازی و استقرار آنها در محیط‌کشت و نیز شاخه‌زایی و تکثیر متعدد شاخه‌ها در این نمونه‌ها صورت پذیرفت. در بررسی اولیه در مورد زادگاه نوش ایران، منابع موجود به منطقه دره کتول گرگان اشاره داشتند که با توجه به مشکلاتی که در دسترسی به پایه‌های موجود در گرگان وجود داشت (به‌دلیل سیلابهای بی‌سابقه در منطقه که مانع از برداشت به‌موقع نمونه به‌خصوص در فصول پاییز و زمستان شد) و نیز بررسی مجدد منابع برای یافتن پایه بالغ برگزیده نوش در سایر مناطق ایران، راهنمایی در جهت یافتن پایه‌هایی از نوش بالغ ۱۵۰ ساله در منطقه قزوین شد. برداشت نمونه از پایه‌های کهنسال قزوین (به‌دلیل سهولت دسترسی به نمونه‌ها) در فصول مختلف بهار ،تابستان و پاییز، انجام گرفت. پس از انتقال سرشاخه‌ها به آزمایشگاه کشت بافت، مراحل پیش سترون و سترون سازی به قرار زیر انجام شد:

پیش سترون سازی:

۱– شستشو با آب و مایع ظرفشویی همراه برس‌کشی در تمام سطوح.

۲– شستشو و برس کشی با محلول الکل (اتانل ۷۰٪).

سترون سازی:

۱– تقسیم جوانه‌ها به قطعات کوچکتر و بعد شستشو با محلول الکل (اتانل ۷۰ ٪) برای مدت یک دقیقه و آنگاه سه بار شستشو با آب مقطر استریل.

۲– استفاده از محلول کلرور مرکوریک ۰/۱٪ در زمانهایی از ۲ تا ۵ دقیقه برای نمونه‌های بهاره و از ٤ تا ۸ دقیقه برای نمونه‌های تابستانه و۵ تا ١٦ دقیقه برای نمونه‌های پاییزه.

۳- سه بار شستشو با آب مقطر استریل.

قابل ذکر است که مراحل سترون سازی به‌طور کامل درون اتاقک کشت و در زیر هود ، با رعایت شرایط استریل صورت گرفت.

جوانه‌های سترون شده در محیط کشت DKW[1] حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمون 2iP مستقر شدند. نمونه‌ها پس از سه بار بازکشت ماهیانه در محیط مذکور، به شاخه‌هایی با رشد طولی مناسب و دارای جوانه‌های جانبی فعال تبدیل گشتند که پس از وصول به تعداد مناسب شاخه، عملیات آماری شاخه‌زایی در سه محیط کشت MS[2]، SH[3] و DKW با هورمونهای IBA، 2iP[4] و BA[5] در غلظتهایی از صفر تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر برای سیتوکنینها و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر برای اکسین صورت پذیرفت و این عملیات ۲ بار تکرار شد. داده‌های حاصل مورد تجزیه واریانس دو عاملی قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن دسته‌بندی شدند.

در مرحله پیش تیمار ریشه‌زایی از محیط کشت پایه DKW فاقد هورمونهای رشد برای مدت دو ماه استفاده شد. پس از طی این زمان نمونه‌ها به‌همان محیط کشت با افزودن هورمون ریشه‌زایی IBA در غلظتهای ۱، ۲ و ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر منتقل شدند.

نتایج و بحث

نمونه‌های بهاره سرشاخه‌های نهالهای جوان، به تقریب در تمامی تیمارهای سترون سازی بکار گرفته شده به خوبی سترون شده و در محیط کشت پایه MS، SH و DKW با هورمون BA و IBA در غلظتهای ۰/۵ و ۱ و ۰/۰ میلی‌گرم در لیتر مستقر گردیدند. از

1- DKW: Driver and Kuniyuki Walnut Medium

2- MS: Murashige and Skoog Medium (Skoog, Murashige،۱۹۶۲)

3- SH: Schenk and Hildebrandt Medium (Schenck, Hildebrandt،۱۹۷۲)

4- 2iP: 6-Benzil Amino Purine

5- BA: α-γ-γ-Dimethyl Allyl Amino Purine

مجموعه جوانه‌های کشت شده در محیط کشت MS، با نصف غلظت نیترات، بعد از دو ماه یک سوم آنها قهوه‌ای شده و بقیه شیشه‌ای شدند و رشد طولی آنها نیز مناسب نبود. نمونه‌ها در محیط کشت SH نیز از رشد مناسبی برخوردار نبودند، به‌همین دلیل برای استقرار جدید جوانه‌ها، تنها از محیط کشت DKW استفاده شد. نمونه‌های تابستانه از نهالهای جوان، پس از استریل با شرایط مذکور به‌طور کاملاً موفقیت آمیز (یعنی با صد درصد زنده‌مانی) در محیط کشت DKW مستقر گشتند. در مورد نمونه‌های پاییزه سرشاخه‌های درختان کهنسال، سترون سازی به‌مدت ۹ دقیقه در محلول کلرور مرکوریک ۰/۱ درصد، بهترین جواب را همراه داشت (جدول شماره ۱). نمونه‌های سترون شده در محیط کشت DKW مستقر شدند.

علت استفاده از محلول کلرور مرکوریک برای سترون سازی نمونه‌ها این بود که مقادیر ضعیف این محلول در زمانهای کوتاه مدت تاثیر قوی و ماندگاری را بر جوانه‌ها داشته و در عین حذف آلودگیهای میکروبی از آنها باعث قهوه‌ای شدن یا مرگ آنها نیز نمی‌شود. پس از استقرار موفقیت‌آمیز جوانه‌ها و رشد آنها در محیط کشت، شاخه‌های حاصل وارد مرحله شاخه‌زایی شدند (شکل شماره۱). در این مرحله از سه محیط کشت DKW، SH و MS (شکل شماره ۲) در دو غلظت مختلف از صفر تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از هورمونهای BA و 2iP به‌طور انفرادی یا با هم به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر از IBA استفاده شده بود. با توجه به جدول غلظت یونی (جدول شماره۲) و مقایسه مقادیر مربوط به قدرت یونی کل در سه محیط کشت مورد استفاده، این نتیجه بدست آمد که بالاترین رقم، مربوط به محیط کشت DKW بوده است. وضعیت رشد و تکثیر شاخه‌ها در محیط‌های کشت نیز موید این موضوع می‌باشد که شاخه‌ها به محیط واجد غلظت یونی بالاتر پاسخ مناسب‌تری داده‌اند.

در بین تنظیم‌کننده‌های رشد مورد استفاده در مرحله شاخه‌زایی، بهترین میانگین تکثیر و رشد طولی مناسب شاخه‌ها در محیط کشت DKW واجد 2iP ۰/۵ و IBA

۰/۰۱ میلی‌گرم درلیتر بدست آمده است. در میان سیتوکنینهای مورد استفاده در مرحله تکثیر و ازدیاد شاخه‌ها، 6-BAP از قویترین مواد تحریک کننده رشد و تکثیر شاخه‌ها بوده که تاثیر قوی و ماندگار بر ریزنمونه‌ها داشته و قابل اتوکلاو نیز می‌باشد. 2iP از جمله سیتوکنینهای طبیعی است که تاثیر آن برتشکیل شاخه‌های نابه‌جا در ریزنمونه *Pinus strobus* کمتر از BA می‌باشد(Flinn و همکاران ، ۱۹۸٦). لیکن در مورد نمونه تحت بررسی، تاثیر 2iP بر ایجاد شاخه‌های متعدد و جوانه‌های نابه‌جا بر شاخه به‌مراتب بیشتر از تاثیر هورمون BA به تنهایی و یا همراه 2iP بوده است.

در تشکیل شاخه‌های نابه‌جا، تیمار سیتوکنین همراه اکسین در مقادیر غلظتی پایین، معمولاً موثر می‌باشد. به‌خصوص برای آغاز شاخه‌زایی، تاثیر اکسینهای طبیعی مانند IBA به‌مراتب بیشتر از اکسین مصنوعی است (Bonga و Aderkas، ۱۹۹۲) و در بررسی اخیر این موضوع به خوبی نمایان بوده است. بررسی نتایج تجزیه واریانس صفات شاخه‌زایی، جوانه‌زنی و رشد طولی نمونه‌ها، نمایانگر این مطلب می‌باشد که تیمار محیط کشت بر میانگین‌های شاخه‌زایی و جوانه‌زنی نمونه‌ها تاثیر معنی‌داری بر جای گذاشته است. تیمار هورمون نیز بر این میانگین‌ها معنی‌دار بوده، ولی تاثیر متقابل عوامل محیط کشت و هورمون بر این میانگینها از نظر آماری معنی‌دار نبوده است (جدول شماره ۳).

با توجه به جدول مقایسه میانگین‌های صفات شاخه‌زایی و جوانه‌زنی نمونه‌ها در محیط کشت DKW نسبت به دو محیط کشت دیگر میانگین‌های مورد بررسی بالاترین میزان را نشان دادند (جدول شماره ٤). از طرفی در داخل همین محیط کشت نیز تاثیر هورمون 2iP بر روی شاخه‌زایی و جوانه‌زنی نمونه‌ها بارزتر از سایر تیمارهای هورمونی بود. در دو محیط کشت دیگر تفاوت معنی‌داری از نظر رشد نمونه‌ها در میان تیمارهای هورمونی مشاهده نشد (جدول شماره ٥).

شاخه‌های متعدد بدست آمده، بعد از طی مرحله پیش تیمار ریشه‌زایی، به محیط ریشه‌زایی منتقل شده و پس از گذشت دو ماه از شروع تیمارهای فوق، در محیط واجد

هورمون IBA به میزان ۲ میلی‌گرم در لیتر، ۳۳/۳۳ درصد ریشه‌زایی (شکل شماره ۳) را نشان دادند.

تکثیر رویشی همراه اصلاح درختان جنگلی، نقشی اساسی در افزایش عملکرد و حاصلخیزی جنگل دارد. ریزپیوندی سرشاخه‌های درختان بالغ از نهالهای بذری سترون شده در درون شیشه در مورد تکثیر درختان بالغ مخروطی *Thuja plicata* بکار گرفته شد. به‌علاوه جنین‌زایی رویشی و اندام‌زایی بافتهای رویان از نمونه‌های جوان توسعه یافته نیز از روشهای دیگر تکثیر این گونه می‌باشد (Coleman و Thorpe، ۱۹۷۸).

تا قبل از ۱۰ سال پیش تکثیر غیر جنسی طبیعی تویا از طریق قلمه‌های ریشه‌دار بود و کشت بافت سوزنی‌برگان در دهه گذشته پیشرفتهای قابل ملاحظه‌ای نمود، ریزنمونه‌های تویا از ساقه‌های نونهال جوان و بالغ در حضور سیتوکنین بالا و اکسین پایین تولید شاخه نابه‌جا نمود و تعداد کمی از سوزنی برگان از جمله تویا پلیکاتا با سهولت کم از درختان بالای ده سال تکثیر می‌شدند (Coleman و Thorpe، ۱۹۷۸). در بررسی اخیر ریزنمونه‌های گرفته شده از پایه کهنسال نوش در محیط کشت DKW رشد بسیار مناسبی را نسبت به نمونه‌های گرفته شده از نونهال نشان دادند.

بعضی از مخروطیان در محیط دارای نصف غلظت از نمکهای پرمصرف، رشد خوب و مناسبی دارند مثل تویا اکسیدنتالیس در محیط ۱/۲QL[1] (Harry و همکاران ۱۹۸۷). در تحقیق اخیر از محیط ۱/۲MS نیز در کنار سایر محیطها استفاده شد، اما نتایج زیاد موفقیت آمیز نبود.

در هرحال کاربرد روشهای ریزازدیادی در مورد اصلاح درختان جنگلی و اصلاح ژنتیکی هنوز با سه مشکل جدی بازده تولید پایین، هزینه بالا و نیز مشکل کاربرد تکنیکهای جدید، روبرو است (Harvay و Grasham، ۱۹۶۹).

1- QL: Quoirin & Lepoivre Medium (Quoirin و Lepoiure ،1977)

جدول شماره ۱: تاثیر تیمارهای سترون سازی بر میزان آلودگی و زنده‌مانی جوانه‌ها

ردیف	محل برداشت نمونه از پایه	تاریخ برداشت نمونه	اندازه نمونه (Cm)	پیش سترون سازی	سترون سازی (دقیقه)	آلودگی جوانه (درصد)	مرگ و میر جوانه (درصد)	جوانه‌های فعال وزنده (درصد)
۱	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(5)´	۱۰	٤۱	٤۹
۲	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(7)´	–	۵۷	٤۳
۳	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(9)´	–	۱۵	۸۵
٤	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(11)´	۹	٤۰	۵۱
۵	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(14)´	٤	۳۰	٦٦
٦	قزوین	۸۱/۷/۷	۰/۵	A,B,C	M(16)´	۲	۲٦	۷۲
۷	نهالستان موسسه	۸۱/۳/۲۰	۰/۵	A,C	M(2)´	–	۱۹	۸۱
۸	نهالستان موسسه	۸۱/۳/۲۰	۰/۵	A,C	M(3)´	–	۳۸	٦۲
۹	نهالستان موسسه	۸۱/۳/۲۰	۰/۵	A,C	M(4)´	–	۵	۹۵
۱۰	نهالستان موسسه	۸۱/ ۵/۳۰	۰/۵	A,C	M(4)´	–	۲	۹۸
۱۱	نهالستان موسسه	۸۱/ ۵/۳۰	۰/۵	A,C	M(6)´	–	–	۱۰۰
۱۲	نهالستان موسسه	۸۱/ ۵/۳۰	۰/۵	A,C	M(8)´	–	٦	۹٤

A : شستشو و برس‌کشی با مایع ظرفشویی B : برس‌کشی با محلول اتانل ۷۰ ٪

C : غوطه‌وری در محلول اتانل ۷۰ ٪ برای یک دقیقه M : غوطه‌وری در محلول کلرورمرکوریک ۰/۱ ٪

جدول شماره ۲: مقایسه غلظت یونی نمکهای موجود در محیطهای کشت مورد بررسی

نوع یون	DKW	SH	MS
NH_4^+ (mM)	۱۷/۵	۲/٦	۲۰/٦۱
K^+(mM)	۲۰	۲٤/۷	۱۰/۵۲
Mg^{++}(mM)	۳	۱/٦	۱/۵
Ca^{++}(mM)	۹/۳	۱/٤	۲/۹۹
Na^+(mM)	۰/۳	۰/۱	۰/۲۲٤
No_3^-(mM)	۳٤/٤	۷/۲٤	۳۹/٤
Po_4^{---}(mM)	۲	۲/٦	۱/۲۵
So_4^{--}(mM)	۱۲/۳	۱/۷	۱/۷٦
Ci $(mM)^-$	۲	۲/۷	٦
I^- (µM)	-	٦	۵
Mn^{++}((µM)	۱۹۸	۵۹	۱۳۲
Zn^{++} (µM)	۵۷	۳/۵	۲۹
B^{+++}(µM)	۷۸	۸۱	۱۰۰
Mo^{+++}(µM)	۱/٦	۰/٤۱	۱/۰۳
Co^{++}(µM)	-	۰/٤۲	۰/۱۰۵
Cu^{++}(µM)	۱	۰/۸	۰/۱
Ni^{++}(µM)	۰/۰۲	-	-
Fe^{++} (µM)	۱۲۲	۵٤	۱۰۰
NH4/NO3 (mM)	۰/۲۲	۰/۱۰۵	۰/۵۲
قدرت یونی کل (mM)	۹٤/۰۷٤	٤۰/٤٦	۵٤/۹۲

جدول شماره ۳ : نتایج تجزیه واریانس صفات شاخه‌زایی، جوانه‌زنی و رشدطولی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		شاخه‌زایی	جوانه‌زنی	رشدطولی شاخه
محیط کشت(A)	۲	۱۳/۵٦۹ **	۲۱/۵۹ **	۲/۷۰٤۵ ns
هورمون(B)	۲	۳/۱۸٤٤ *	۰/۷۹٦ ns	۰/٦٦٦ ns
A*B	٤	۲/۲۱۱۸ ns	۰/۷۲۹ ns	۰/٦۳٤ ns
خطا	۹	-	-	-

ns اختلاف بدون معنی * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ ٪ ** اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪

جدول شماره ٤ : مقایسه میانگین‌های شاخه‌زایی و جوانه‌زنی نمونه‌ها در محیط کشتهای مختلف (به روش دانکن)

محیط کشت	میانگین جوانه‌زنی	میانگین شاخه‌زایی
DKW	۲/ ۲٤A	۱/۸۳ A
MS	۱/٦۲B	۱/ ۳۸B
SH	۱/٤۷B	۱ / ۳۸ B

حروف مشابه در هر ستون ، بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

جدول شماره ٥ : مقایسه میانگین‌های شاخه‌زایی و جوانه‌زنی نمونه‌ها تحت تاثیر محیط کشت و هورمون

محیط کشت	غلظت هورمون(mg/lit)	میانگین جوانه‌زنی	میانگین شاخه‌زایی
DKW	2iP : 0.5	۲/۳۸A	۲/۰٤A
	BA : 0.5	۲/۲۱AB	۱/۷۷AB
	2iP,BA : 0.5	۲/۱۳ABC	۱/٦۸AB
MS	2iP :0.5	۱/٤۳C	۱/۲۸B
	BA : 0.5	۱/٤٤C	۱/۳۹B
	2iP ,BA : 0.5	۱/٥٥BC	۱/٤۳AB
SH	2iP :0.5	۱/۷۷ABC	۱/٦۹AB
	BA :0.5	۱/٦۷ABC	۱/ ۲۹B
	2iP ,BA : 0.5	۱/ ٤۳C	۱/۱۷B

در تمامی تیمارهای هورمونی غلظت ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بکار رفته است.

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد.

دسته‌بندی میانگین‌ها با روش دانکن صورت پذیرفته است.

شکل شماره ۱: شاخه‌زایی و تکثیر شاخه‌ها در محیط کشت DKW واجد ۰/۵ 2iP و ۰/۰۱ IBA (میلی‌گرم در لیتر)

شکل شماره ۲ : مقایسه شاخه‌زایی جوانه‌ها در سه محیط کشت مورد بررسی (MS-SH-DKW) به‌ترتیب از چپ به راست

شکل شماره ۳: ریشه‌زایی نوش در محیط کشت DKW

سپاسگزاری

در انجام این بررسی از همکاری صمیمانه دوستان عزیزم خانم مهندس شکوفه شهرزاد و خانم مهندس طیبه سهیلا نراقی برخوردار بوده‌ام که در همین‌جا از ایشان تشکر می‌نمایم و نیز از همکاران محترم در مرکز منابع طبیعی استان قزوین به‌خصوص جناب آقای مهندس ابطحی که در امر جمع‌آوری نمونه‌ها از پایه برگزیده، صمیمانه مساعدت نموده‌اند متشکرم. از راهنماییهای سرکار خانم دکتر سودابه علی احمد کروری و آقای دکتر ولی‌اله مظفریان در شناسایی و تشخیص پایه برگزیده، قدردانی می‌نمایم. همچنین از آقای دکتر ابراهیم شریفی عاشورآبادی که در انجام طرح آماری این پژوهش کمال مساعدت را با بنده داشته‌اند متشکرم.

منابع

اسدی، مصطفی، ۱۳۷٦. فلور ایران: بازدانگان. ش ۲۱– تیره کاج، سرخدار، سرو و ارمک. موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، ص ۸–۹.

ثابتی، حبیب‌اله، ۱۳٤٤. درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه تهران، ص ۳۷٦–۳۷.

کروری، سودابه علی احمد، ۱۳۷٦. درختان دیرزیست استان قزوین. مجله جنگل و مرتع، شماره ٤۳: ص ٤٤–٤٥.

Aboel-Nil, M.M, 1987. Tissue culture of *Douglas fir* and Western North american conifers. In: Bonga, J.M. (ed). Cell and Tissue Culture in Forestry, Vol 3, case Histories: Gymnosperms Angiosperms and Palms, Martinus Nijhoff Publisher, Dordrecht: 80-100.

Bonga, J.M. and Aderkas, P.V. 1992. *In vitro* culture of trees, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.

Coleman, W.A. and Thorpe, T. 1977. *In vitro* culture of western red sedar (*Thuja plicata* Donn): 1. Plantlet formation. Ot Gaz, 38: 2298-2304.

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

Flinn, B.S., Webb, D.T. and Georgis, W. 1986. *In vitro* control of caulogenesis by growth regulators and media components in embryonic explants of eastern white pine (*Pinus strobus*). Can. J. Bot., 64 :1948-1956.

Harry, I.S., Thompson, M.R. Lu. C.Y. and Thorpe, T. 1987. *In vitro* plantlet formation from embryonic explants of eastern white *sedar (Thuja occidentalis*). Tree Physiol., 3:273-283.

Harvay, A.E.J. and Grasham, L. 1969. Procedures and media for obtaining tissue cultures of 12 conifer species. Can. J. Bot., 47: 547-549.

Quoirin, M. and Lepoivre, P. 1977. Etude de milieux adaptex aux cultures in vitro de *Prunus*. Acta .Horticulturae, 78:437-442.

Schenck, R.U. and Hildebrandt, A.C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell cultures. Can. J. Bot., 50:199.

Skoog, F. and Murashige, T. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology, 15: 473-479.