

## بررسی تیمارهای ضدعفونی و ریز نمونه کاج مطبق در کشت بافت (*Araucaria heterophylla*)

حسین محمودی (۱)، رحیم حداد (۲) و سیامک کلانتری (۳)

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، ۲- گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی، قزوین، ۳- گروه باغبانی دانشگاه تهران، دانشکده علوم باغبانی و گیاه پزشکی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی

تکثیر گیاهان عالی در شرایط درون شیشه ای، یکی از مهم ترین اهداف کشت بافت گیاهی محسوب می شود. در این پژوهش به منظور دستیابی به مناسب ترین قطعه جدا کشت (جدا کشت های برگ، ساقه اصلی و فرعی طبقه های مختلف کاج و مریستم هر بخش) و موثرترین فرمول ضدعفونی با استفاده از محلول های هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و کلرومرکوریک ۰/۱ درصد در تیمارهای مختلف زمانی بر روی محیط کشت پایه نصف MS حاوی ویتامین ها به همراه ۳ درصد ساکارز و ۰/۲ درصد فیتازل کشت شدند. آزمایش ها در قالب طرح کاملاً تصادفی برای جداکشت ها و طرح فاکتوریل برای تیمارهای ضدعفونی کننده انجام گرفت. بررسی های آماری نشان داد که مناسب ترین جدا کشت قطعات ساقه فرعی در بخش های فوقانی کاج نسبت به سایر ریزنمونه ها در سطح ۵ درصد معنی دار بوده و موثرترین فرمول ضدعفونی کننده استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۵ دقیقه به همراه کلرومرکوریک ۰/۱ درصد به مدت ۱ دقیقه نسبت به سایر تیمارهای زمانی در سطح ۱درصد معنی دار بوده است.

واژه های کلیدی: کاج مطبق - آروکاریا - کشت بافت - تکثیر درون شیشه ای.

### مقدمه

آروکاریای زینتی با نام علمی *Araucaria heterophylla* و نام انگلیسی Norfolk Island Pine از خانواده Araucariaceae است. این درخت بسیار زیبا و تاجی خوش فرم مطبق دارد و یکی از زیباترین و مشهورترین درختان زینتی است که در همه باغها، ویلاها، پارکها و مجموعه های گیاهی به عنوان عناصر اصلی در طراحی و زیبایی چشم انداز به کار می رود. چوب آن نرم و از کیفیت مطلوبی برخوردار بوده و همانند سایر گونه های آروکاریا، کاربردهای گوناگونی در صنعت و بیشتر در ساختمان دارد (۱). رشد این درخت نسبتاً سریع بوده و ارتفاع زیادی تا ۷۰ متر و قطری برابر ۲ متر بدست می آورد. برگها به دو صورت داسی شکل، کمی برافراشته و به رنگ سبز روشن بر روی شاخه های نازا، جوان و همچنین نوک تیز و خمیده به صورت خیلی فشرده به رنگ سبز تیره در شاخه های بارده و بزرگ دیده می شوند. جوانه ها نامشخص و از فلسهای داسی شکل به رنگ سبز روشن پوشیده شده است. تکثیر آن علاوه بر بذر از طریق قلمه نیز میسر است، ولی ریشه دادن آنها نیاز به زمان خیلی طولانی دارد (جوانشیر، کریم). بذر آن نیز به دلیل از دست دادن قوه نامیه خود به هنگام قرار گرفتن در معرض هوا و طولانی بودن طول دوره باردهی برای تکثیر انبوه مناسب نمی باشد. بنابراین برای دست یابی به روش تکثیر مطلوب در روش کشت بافت نیاز به انجام پروژه

هایی گوناگون در شرایط آزمایشگاهی می باشد، بررسیهایی که در نهایت منجر به یافتن دستورالعملی برای تکثیر این گونه در شرایط آزمایشگاهی باشد.

### مواد و روش ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش، قطعات ساقه ای اصلی و فرعی در بخشهای فوقانی و تحتانی کاج، مریستم ها و همچنین برگهای ساقه اصلی و فرعی بودند که از گیاه در حال رشد برداشت شده و به آزمایشگاه انتقال یافت. برای ضدعفونی ریزنمونه ها دو پیش تیمار و سه تیمار اصلی به شرح ذیل انجام گرفت. پیش تیمارهای ضدعفونی شامل شستشو در آب جاری به مدت ۳ ساعت و قارچ کش بنومیل ۰/۵ درصد به مدت ۵ دقیقه روی شیکر و تیمارهای اصلی ضدعفونی در شرایط استریل شامل ۱- به کارگیری هیپوکلریت سدیم ۱ درصد در چهار سطح زمانی (۰، ۱، ۳ و ۵ دقیقه) ۲- استفاده از کلرومرکوریک ۰/۱ درصد در چهار سطح زمانی (۰، ۱، ۲ و ۳ دقیقه) می باشد. نمونه ها در هر مرحله از ضدعفونی ۳ مرتبه (هر مرتبه ۵ دقیقه) با آب مقطر استریل آبکشی شدند. سپس ریزنمونه ها برای کشت به محیط کشت MS حاوی ویتامین ها، ۳ درصد ساکارز و ۰/۲ درصد فیتاژل انتقال داده شدند. pH محیط کشت نیز قبل از اتوکلاو بر روی ۵/۸ تنظیم گردید.

### نتایج و بحث

در این بررسی از کلرومرکوریک ۰/۱ درصد به همراه هیپوکلریت سدیم ۱ درصد برای ضدعفونی جدا کشتهای استفاده شد. در سوزنی برگان از محلول های فوق جهت ضدعفونی استفاده می شود (نراقی، سهیلا. امام، میترا). بررسی نتایج در قالب طرح فاکتوریل برای ضدعفونی کننده ها نشانگر این است که تیمارهای زمانی ۵ دقیقه برای هیپوکلریت سدیم ۱ درصد و ۱ دقیقه برای کلرومرکوریک ۰/۱ درصد نسبت به سایر تیمارها در سطح ۱ درصد کاملاً معنی دار می باشد. همچنین بررسی نتایج آماری برای جداکشتهای در قالب طرح کاملاً تصادفی نشانگر این است که ساقه های فرعی طبق های فوقانی نسبت به سایر جداکشتهای از لحاظ استقرار و سبز بودن مناسب تر بوده و در سطح ۵ درصد معنی دار می باشد. اکثر مریستم ها در حضور مواد استریل کننده فوق دچار سوختگی شده و از درصد زنده ماندن کمتری برخوردار بودند. علت استفاده از جدا کشت ساقه به جای بذر این است که دوره بذر دهی در کاج مطبق هر ۳ الی ۴ سال یکبار بوده و معمولاً بذر دهی از سنین ۱۵ الی ۲۰ سالگی آغاز می شود. همچنین بذور کاج مطبق قوه نامیه خود را سریع در معرض هوا از دست می دهند (جوانشیر، کریم). لذا استفاده از ریزنمونه ای که در هر زمان در دسترس باشد، بیشتر مورد نظر این تحقیق بوده است.

### منابع:

- ۱- گونه های بومی و غیر بومی سوزنی برگ در ایران - حبیب زارع، موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، سازمان تحقیقات و آموزش ترویج کشاورزی ۱۳۸۰.

- 2- Li X. Y., F. H. Huang and E. E. Gbur Jr. (1998). "Effect of basal medium, growth regulators and Phytigel concentration on initiation of embryogenic cultures from immature zygotic embryos of loblolly pine (*Pinus taeda* L.)". *Plant Cell Reports* **17** (4): 298-301.
- 3- G.Mathur, R.Nadgouda (1999). " In vitro plantlet regeneration from mature zygotic embryos of *Pinus wallichiana* A.B Jacks". *Plant Cell Reports*. 19:74-80
- 4- F.B.Webster, D.R.Roberts, S.M.McInnis, And B.C.S.Sutton.(1990)." Propagation of interior spruce by somatic embryogenesis." *Can.J.For.Res.*20:1759-1765
- Propagation of interior spruce by somatic embryogenesis . F.B.Webster, D.R.Roberts, S.M.McInnis, And B.C.S.Sutton.*Can.J.For.Res.*20:1759-1765

### **Study of Disinfection Treatments and Explants on the Tissue Culture of *Araucaria heterophylla***

Hosein Mahmudi<sup>1</sup>, Raheem Haddad<sup>2</sup>, Siyamak Kalantari<sup>3</sup>

1- MSc Student of Agricultural Biotechnology Department, Imam Khomeini International University. 2- Agricultural Biotechnology Department, Imam Khomeini International University, Qazvin, Iran 3- Department of Horticulture, Agricultural Collage of Tehran University.

#### **Abstract**

One of the most important objects of the plant production is the micropropagation of a higher plant *in vitro* condition. In this research project, different portion of the *Araucaria heterophylla* explants was disinfected using 1% sodium hypochlorite and 0/1% mercuric chloride with different time of incubation as treatment to obtain suitable formula of sterilizing and also the explant. The explants were incubated on the basal salt medium 1/2MS containing vitamins, 3% sucrose and 0/2% phytigel. A randomized factorial and completely randomized designs were set up to analyze the sterilizing treatments and explants, respectively. Data analysis revealed that suitable treatment of the sterilization is applying 1% sodium hypochlorite for 5 minutes and then incubation of the segments into 0/1% mercuric chloride for 1 minute ( $\alpha = 1$ ). Also, the best explants was the segments of auxiliary shoot excised from the upper portion of the plant ( $\alpha = 0/5$ ).

**Key words:** *Araucaria heterophylla*, Tissue culture, *in vitro* propagation.