نشریه جنگل و فراورده‌های چوب. مجله منابع طبیعی ایران
دوره ٦٦، شماره ٢، تابستان ١٣٩٢
١٦٧

تاریخ دریافت: ١٣٨٨/١٠/١٠
تاریخ پذیرش: ١٣٩٢/٤/٢

واکنش جمعیت‌هایی از گز روغنی به محیط‌های مختلف کشت در تولید کالوس و باززایی

❖ **فرشته اسدی کرم** *؛ کارشناس ارشد و محقق مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران
❖ **حسین میرزایی ندوشن؛** استاد پژوهش و عضو هیئت علمی، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران
❖ **میترا امام؛** مربی پژوهش و عضو هیئت علمی، مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تهران، ایران
❖ **غلامرضا بخشی خانیکی؛** استاد و عضو هیئت علمی دانشگاه پیام نور، تهران، ایران

چکیـــده

گز روغنی (*Moringa peregrina* (Forssk). Fiori) از گونه‌های باارزش جنگلی مناطق گرمسیری است که به‌سبب ویژگی‌های خاص رویشی و نیز برداشت بی‌رویهٔ بذر و زادآوری نامناسب سال‌هاست در معرض خطر قرار گرفته است. این تحقیق به‌منظور مطالعهٔ اثر چندین محیط کشت در تکثیر و ریز ازدیادی پایه‌هایی از سه جمعیت گز روغنی و اثر متقابل این دو عامل اجرا شد. بدین‌منظور، بذر نارس از مناطق چانف، بنت، و کنشکی واقع در استان سیستان و بلوچستان جمع‌آوری شد و جوانه‌های حاصل از رویش بذر در هشت ترکیب از دو محیط کشت پایهٔ MS و ١/٢MS با غلظت‌های متفاوت هورمون‌های BA و ٢iP کشت شدند. گیاهچه‌های حاصل از شاخه‌زایی در دو محیط کشت مختلف ریشه‌دار شده و در مخلوطی از پیت و ورمیکولایت مستقر شدند. برخی نمونه‌ها از جمعیت‌های مورد مطالعه دارای کالوس‌زایی با توان باززایی بالا بودند. تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد بین جمعیت‌ها از نظر صفات تعداد شاخه، تعداد جوانهٔ فعال، حجم کالوس تولیدشده، و طول بلندترین شاخه، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. علاوه‌براین، بین محیط کشت‌ها، در مورد کلیهٔ صفات، جز حجم کالوس تولیدشده، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود داشت. به‌نظر می‌رسد با کاهش غلظت عناصر غذایی پرمصرف در محیط کشت، میزان تولید شاخه در این گونه به‌طور معنی‌داری افزایش یابد. با توجه به منشأ متفاوت نمونه‌های گیاهی، تفاوت بین مناطق که ممکن است ناشی از تفاوت‌های ژنتیکی و تأثیر وضعیت محیطی باشد به‌خوبی آشکار شد.

واژگان کلیدی: جمعیت گیاهی، کالوس، گز روغنی محیط کشت.

* نویسنده مسئول تلفن: ٠٢١٤٤٥٨٠٢٨٢
E. mail: asadi@rifr-ac.ir

مقدمه

گز روغنی (*Moringa peregrina* (Forssk.). Fiori) تنها گونهٔ جنس *Moringa* است که در ایران رویش دارد و به ارتفاعات جنوب شرقی کشور محدود می‌شود؛ منطقه‌ای که بارندگی آن بیش از ۲۰۰ میلی‌متر در سال نیست. ویژگی‌های عمومی این گونه آن را در برابر عوارض موجود بسیار آسیب‌پذیر کرده؛ به‌طوری‌که امروزه آن را فقط می‌توان در ارتفاعات دور از دسترس انسان یافت [۱]. کشت بافت و سایر روش‌های نوین تکثیر غیر جنسی از راه‌حل‌هایی است که معمولاً در احیای گونه‌های در معرض خطر به کار می‌رود [۲]. اگرچه در تکثیر و احیای گونه‌های جنگلی به‌منظور جلوگیری از فرسایش ژنتیکی، استفاده از کشت بافت و ریز ازدیادی، با توجه به هزینهٔ بالای آن، باید آخرین راه‌حلی باشد که به‌کار می‌رود، دسترسی به دستورالعملی مطمئن در تکثیر رویشی این گونه‌ها کاربردهای خاص خود را دارد. در خصوص گونه‌ای چون گز روغنی گرچه تا کنون گزارش‌های معدودی در استفاده از کشت بافت و ریز ازدیادی آن ارائه شده [۱، ۳]، ولی از دامنهٔ تنوع ژنتیکی ویژگی‌های گیاهچه‌های حاصل از ریز ازدیادی یا توانمندی جمعیت‌های مختلف این گونه در پاسخ به محیط‌های مختلف کشت و اثر متقابل عوامل گیاهی و محیط کشت هیچ گزارشی وجود ندارد. در عالم گیاهان روش‌های مختلف جنین‌زایی وجود دارد که به کمک آن‌ها می‌توان اساس ژنتیکی گونه‌های گیاهی را گسترش داد. از طرفی، روش‌های مختلف ریز ازدیادی از روش‌هایی‌اند که به کمک آن‌ها می‌توان ضمن حفظ ویژگی‌های ژنتیکی یک ژنوتیپ از آن به‌خوبی مراقبت کرد.

در این تحقیق به‌منظور تکثیر گونهٔ رو به انقراض گز روغنی به روش ریز ازدیادی، از تعداد چشمگیری ژنوتیپ مختلف، که از چند جمعیت گیاهی جمع‌آوری شده بودند، استفاده شد تا ضمن مطالعهٔ چگونگی ریز ازدیادی این گونه با استفاده از نمونه‌های متعددی از چند جمعیت از این گونه، امکان تولید یک ذخیرهٔ توارثی با تنوع ژنتیکی کافی فراهم شود. به‌همین‌منظور، از گیاهچه‌های حاصل از رویش بذرها و جنین‌های نارس سه منطقهٔ چانف، بنت، و کنشکی در این مطالعه استفاده شد. در کلیهٔ مراحل انجام این تحقیق شجرهٔ هر گیاهچه از نظر جمعیت و تیمارهای مورد آزمون ثبت شد تا تفاوت‌های احتمالی بین ژنوتیپ‌ها و جمعیت‌ها نیز مشخص شود.

مواد و روش‌ها

بذرهای نارس جمع‌آوری‌شده از مناطق مذکور، پس از ضد عفونی، در وضعیت کاملاً استریل‌شده و در محیط‌های مختلفِ کشت شروع به جوانه‌زنی و رشد کردند و پس از اینکه طول آن‌ها به۲ـ۲/۵ سانتی‌متر رسید، از ناحیهٔ یقه قطع و به محیط‌های کشت مورد نظر منتقل شدند [٤]. از دو محیط کشت پایهٔ MS[1] و ۱/۲MS با غلظت‌های متفاوت هورمون‌های BAP[2] و ۲iP[3] در این مطالعه استفاده شد. میزان و نوع هورمون‌های مورد مصرف و همچنین میزان عناصر پرمصرف غذایی در جدول ۱ ارائه شده است.

پس از گذشت ۳۰ روز، پارامترهایی چون تعداد شاخه، میانگین طول شاخه، تعداد جوانهٔ فعال، میزان تولید کالوس و تعداد ریشه بررسی شدند. طول بلندترین و کوتاه‌ترین شاخه‌ها نیز به‌عنوان دو صفت دیگر ارزیابی شدند. این آزمون در قالب طرح فاکتوریل بر پایهٔ طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام گرفت. داده‌های حاصل در نرم‌افزار SAS تحلیل و بررسی شدند. نمودارها نیز در نرم‌افزار Excel ترسیم شد.

پس از یادداشت‌برداری، گیاهچه‌های حاصل از شاخه‌زایی، یک بار در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بازکشت شدند و پس از گذشت

1. Murashige and Skoog medium
2. 6 – -Benzylamino Purine
3. N6(2-isopentenyl)-adenine

جدول ۱. تیمارهای مختلف محیط کشت برای کاشت ریزنمونه‌های مناطق مختلف گونهٔ Moringa peregrina.

تیمارهای هورمونی	BA (mg/lit)	2iP (mg/lit)	عناصر ماکرو	ترکیبات حاوی نیترات	کلرید کلسیم
T1	-	-	کامل	کامل	کامل
T2	۰/۵	-	کامل	کامل	کامل
T3	۱	-	کامل	کامل	کامل
T4	۰/۵	۰/۵	کامل	کامل	کامل
T5	-	-	نصف	نصف	نصف
T6	۰/۵	-	نصف	نصف	نصف
T7	۱	-	نصف	نصف	نصف
T8	۰/۵	۰/۵	نصف	نصف	نصف

یک ماه، برای ریشه‌زایی، به محیط کشت حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA[1] و ۵ گرم در لیتر آگار، منتقل شدند. سپس، در گلخانه، به خاکی با ترکیب ۵۰ درصد پیت ماس و ۵۰ درصد ورمیکولایت منتقل و با محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند.

علاوه‌براین، با توجه به اینکه کالوس‌های تولیدشده از انتهای ساقهٔ نمونه‌های جمعیت چانف توان باززایی بالایی داشتند، کالوس‌های تشکیل‌شده در تیمارهای ۲، ۳، ٦، و ۷ تا سه بار در محیط‌های کشت اولیهٔ خود (پس از برداشت شاخه‌ها) بازکشت شدند. هر ۳۰ روز، تعداد گیاهان حاصل از باززایی آن‌ها شمارش و از سطح کالوس‌ها جدا شدند. گیاهان باززایی‌شده نیز به روشی مشابه گیاهان حاصل از شاخه‌زایی به خاک منتقل شدند.

نتایج

با توجه به اینکه هورمون BAP از مؤثرترین سایتوکینین‌ها در تولید شاخه است، اثر غلظت‌های مختلف این هورمون (۰، ۰/۵، و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و همچنین اثر ترکیب برابر آن با ۲iP (۰/۵ و ۰/۵) بر روی صفات مورد مطالعه، بررسی شد [۵]. علاوه‌براین، از دو محیط کشت پایهٔ MS کامل و محیط کشت ۱/۲MS (دارای نصف غلظت عناصر ماکرو، کلرید کلسیم، و ترکیبات حاوی نیترات) در ترکیب با هورمون‌های ذکرشده استفاده شد تا اثر کاهش غلظت عناصر غذایی بر صفات مورد مطالعه نیز بررسی شود. با جمع‌آوری نمونه‌ها از سه جمعیت مختلف نیز فرصتی فراهم شد تا تأثیر منطقهٔ رویش و فاصلهٔ جغرافیایی، بر روی صفات تحت مطالعه مشخص شود. تجزیهٔ واریانس داده‌ها نشان داد که بین جمعیت‌ها از نظر صفات تعداد شاخه، تعداد جوانهٔ فعال، حجم کالوس تولیدشده، و طول بلندترین شاخه، اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد وجود دارد. علاوه‌براین، مشخص شد که اختلاف معنی‌داری، در سطح ۱درصد، بین محیط‌های کشت مورد مطالعه بر روی کلیهٔ صفات، به‌جز حجم کالوس تولیدشده، وجود دارد (جدول ۲). همچنین، بر اساس نتایج حاصل از دسته‌بندی میانگین‌ها به روش دانکن، جمعیت‌ها از نظر صفت تعداد شاخه در سه دسته قرار گرفتند. بیشترین تعداد شاخه (با میانگین ٤/۹) و بلندترین طول شاخه (٤/٦ سانتی‌متر) مربوط به جمعیت چانف بود. کمترین تعداد شاخه (با میانگین ۱/٦) و کوتاه‌ترین طول شاخه (۳ سانتی‌متر) به جمعیت کنشکی تعلق گرفت. جمعیت‌های بنت و چانف از نظر حجم کالوس تولیدشده در دستهٔ اول، و کنشکی در دستهٔ دوم، قرار گرفتند (جدول ۳). با معنی‌دار شدن اختلاف بین تیمارها، دسته‌بندی آن‌ها نیز به روش دانکن انجام شد تا کیفیت این تفاوت‌ها مشخص شود (جدول ٤).

1. Naphtalene Acetic Acid

جدول ۲. میانگین مربعات حاصل از تجزیهٔ واریانس صفات مورد مطالعه از کاشت ریزنمونه‌های گز روغنی (*Moringa peregrina*) از مناطق مختلف، در محیط‌های کشت مختلف

منابع تغییر	درجهٔ آزادی	تعداد شاخه	میانگین طول شاخه	تعداد جوانهٔ فعال	حجم کالوس	طول بلندترین شاخه	طول کوتاه‌ترین شاخه
جمعیت	۲	۵۳/۹**	۰/۸ns	۴۷۳/۸**	۶/۵**	۱۷/۹**	۱/۵ns
محیط کشت	۷	۱۶/۹**	۱۱/۸**	۸۱/۴ **	۱/۵ns	۸/۳*	۱۵/۲**
جمعیت*محیط کشت	۱۴	۶/۰ns	۴/۰۲*	۳۲/۵ ns	۲/۹**	۴/۸ ns	۵/۲ns
خطا	۵۷	۴	۱/۸	۳۰/۷	۱/۰۲	۲/۹	۳/۱

**: معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد؛ *: معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد؛ و ns: غیر معنی‌دار

جدول ۳. میانگین صفات مورد مطالعه در جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*)

صفت / جمعیت	تعداد شاخه	میانگین طول شاخه (cm)	تعداد جوانهٔ فعال	حجم کالوس (cm^3)	طول بلندترین شاخه (cm)	طول کوتاه‌ترین شاخه (cm)
بنت	۲/۷b	۲/۸	۶/۱۶b	۱/۱۵a	۳/۷۲ab	۲/۱۳
چانف	۴/۹a	۲/۷	۱۳/۰۸a	۱/۷a	۴/۶a	۱/۹
کنشکی	۱/۶c	۲/۷	۴/۰۹b	۰/۵b	۳b	۲/۳۱

مناطق دارای حروف مشترک در یک دسته قرار می‌گیرند.

جدول ٤. میانگین صفات مورد مطالعهٔ جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) در محیط‌های مختلف کشت

صفت / محیط کشت	تعداد شاخه	میانگین طول شاخه (cm)	تعداد جوانهٔ فعال	حجم کالوس (cm^3)	طول بلندترین شاخه (cm)	طول کوتاه‌ترین شاخه (cm)
T۱	۳/۸b	۲/۴۳ bc	۹/۵b	۱/۱۶	۳/۹b	۱/۲۵bc
T۲	۴/۰۸b	۲/۶ bc	۸/۵b	۱/۰۲	۴/۲۹ ab	۲/۴۲b
T۳	۲/۶bcd	۳/۰۴b	۴/۷b	۱/۳۸	۴/۵ab	۲/۲bc
T۴	۱/۱۱d	۵/۲۷a	۶/۳۳b	۰/۲۷	۵/۷a	۵a
T۵	۳bcd	۲/۳۵bc	۷/۸b	۱/۱۵	۳/۷b	۱/۶bc
T۶	۶/۴a	۱/۳۹c	۱۶/۷a	۱/۷	۲/۸b	۰/۷c
T۷	۳/۵bc	۲/۳۴bc	۹/۱۶b	۱/۹	۳/۴۱b	۱/۸bc
T۸	۱/۶cd	۲/۸b	۴/۷b	۰/۸۳	۳/۳۳b	۲/۱۶ bc

محیط‌های کشت دارای حروف مشترک در یک دسته قرار می‌گیرند.
تیمارهای مشخص‌شده در جدول ۱ معرفی شده‌اند.

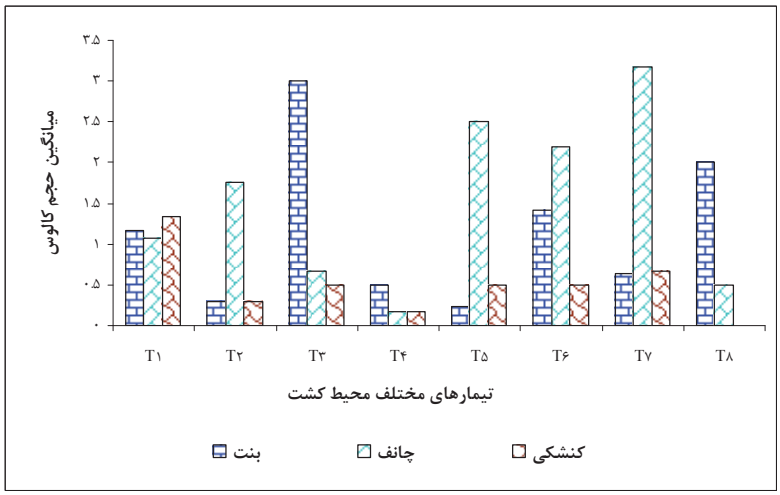
محیط‌های کشت نیز از نظر میزان شاخه‌زایی در چهار دسته قرار گرفتند. بیشترین میزان تولید شاخه (٦/٤) به محیط کشت ۱/۲MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP (نصف غلظت عناصر غذایی پرمصرف) (دستهٔ اول) اختصاص یافت. کمترین میزان شاخه‌زایی نیز در محیط MS کامل که دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ۲iP بود (دستهٔ سوم)، حاصل شد. دو محیط MS کامل بدون هورمون (شاهد) و MS کامل دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP نیز در یک دستهٔ جداگانه (دستهٔ دوم) قرار گرفتند. از نظر میانگین طول شاخه نیز محیط‌های کشت در سه دسته قرار گرفتند. بالاترین میانگین طول شاخه با ارتفاع ۵/۲۷ سانتی‌متر به محیط کشت MS کامل دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ۲iP، تعلق گرفت و این تیمار در دستهٔ اول قرار گرفت. تیمارهای ۳ و ۸ در دستهٔ دوم قرار گرفتند و محیط کشت ۱/۲MS با

ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP (تیمار ٦)، با پایین‌ترین طول شاخه به ارتفاع ۱/۳۹ سانتی‌متر، در دستهٔ سوم قرار گرفت.

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین ضریب شاخه‌زایی در بین سه جمعیت، متعلق به چانف است و بالاترین میزان شاخه‌زایی، مربوط است به محیط کشت ۱/۲MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP. درحالی‌که میزان تولید شاخه در محیط MS کامل دارای همین ترکیب، کمتر است. به‌نظر می‌رسد با کاهش غلظت عناصر غذایی پرمصرف در محیط کشت، میزان تولید شاخه به‌طور معنی‌داری افزایش یابد. در تحقیقی، با مطالعه بر روی گونهٔ دیگری از مورینگا (*M. oleifera*)، محیط کشت پایهٔ MS کامل حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BAP، محیط مناسبی برای تکثیر این گونه شناخته شد [٦]. در گزارشی دیگر، از محیط کشت MS دارای اسید آمینه و میواینوزیتول اضافی، همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر کاینتین و نیز از محیط کشت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، برای شاخه‌زایی گونهٔ مذکور استفاده شد [۳].

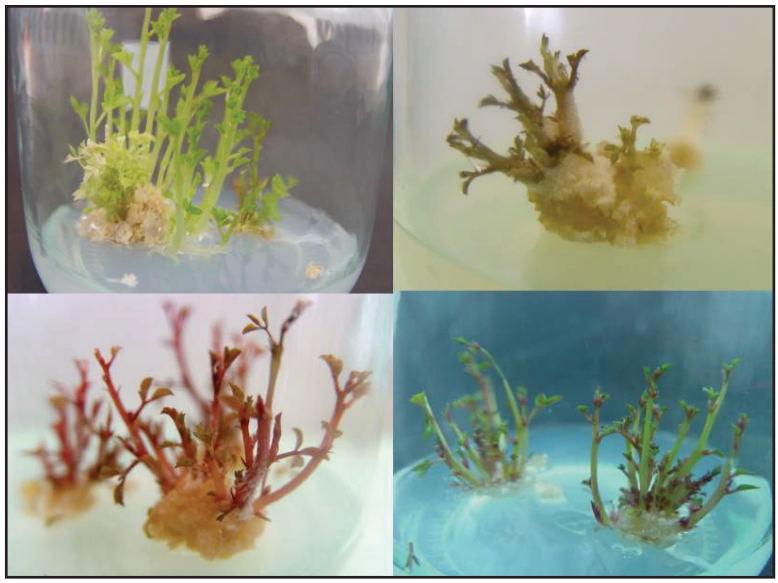
علاوه‌براین، بررسی اثر تیمارها بر روی صفات مورد مطالعه نشان داد که بین دو محیط کشت بدون هورمون MS کامل و ۱/۲MS، از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری بر روی صفات مورد مطالعه وجود ندارد؛ اگرچه با وجود غلظت کاملی از عناصر غذایی، رشد طولی اندکی زیادتر می‌شود. از نظر میانگین رشد طولی هیچ اختلاف معنی‌داری بین جمعیت‌ها وجود نداشت، ولی با مقایسه‌ای که انجام شد، مشخص شد که بلندترین شاخه‌ها به جمعیت‌های چانف تعلق دارند. نیز نتایج نشان دادند که حضور ۲iP در کنار BAP در هر دو محیط کشت MS کامل و ۱/۲MS، به کاهش معنی‌دار شاخه‌زایی منجر شد. اما، زمانی که غلظت عناصر غذایی محیط کشت به میزان نصف کاهش یافت، ۲iP به کاهش معنی‌دار رشد طولی شاخه‌ها انجامید.

اگرچه اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های کشت از نظر حجم کالوس مشاهده نشد، دامنهٔ اختلافات بین تیمارها چشمگیر بود. به‌طوری‌که بیشترین حجم تولید کالوس به محیط‌های کشت ۱/۲MS، که به‌ترتیب حاوی ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP (تیمارهای ٦ و ۷) بودند، اختصاص یافت و کمترین آن به تیمار ٤ (MS کامل دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ۲iP) تعلق گرفت (شکل ۱).



شکل ۱. تأثیر تیمارهای مختلف محیط کشت و هورمون بر میزان کالوس‌زایی بین جمعیت‌های مختلف گز روغنی (*Moringa peregrina*) (سطوح تیمارهای T۱ تا T۸ در جدول ۱ معرفی شده است.)

علاوه‌براین، با توجه به میانگین‌ها، مشخص شد که جمعیت چانف در محیط کشت پایهٔ ۱/۲MS، و جمعیت بنت در محیط کشت پایهٔ MS، بیشترین میزان کالوس را تولید کردند. درحالی‌که جمعیت کنشکی بیشترین تولید کالوس را در محیط کشت MS فاقد هورمون، داشت. از ویژگی‌های کالوس‌های تولیدشده در کلیهٔ تیمارها، قابلیت باززایی آن‌ها بود. این توانمندی به‌طور چشمگیری در بین نمونه‌های متعلق به جمعیت چانف بالا بود (شکل۲). نتایج حاصل از شمارش شاخه‌های حاصل از باززایی کالوس‌های تشکیل‌شده در چهار تیمار ۲، ۳، ٦، و ۷ در جدول ۵ ارائه شده است.



شکل ۲. باززایی گیاه از بازکشت مکرر کالوس‌های تولیدشده بر روی محیط‌های مختلف کشت

جدول ۵. تعداد گیاهان باززایی‌شده از بازکشت مکرر کالوس‌های به‌دست‌آمده در محیط‌های مختلف کشت (جمعیت چانف)

ردیف	ژنوتیپ	محیط کشت	بازکشت اول	بازکشت دوم	بازکشت سوم	بازکشت چهارم
۱	G1	MS + BA 0.5 mg/l	۱۷	۱۶	۱۱	-
۲	G2	MS + BA 1mg/l	۵۲	۱۵	۲۲	-
۳	G3	MS + BA 1mg/l	۳۰	۲۴	۴۰	۲۱
۴	G4	$^1/_2$ MS + BA 0.5 mg/l	-	۱۶	۲۹	-
۵	G5	$^1/_2$ MS + BA 1 mg/l	۶	۳۷	۲۵	-

به‌رغم اینکه هیچ تفاوت معنی‌داری بین محیط‌های مختلف کشت از نظر تولید کالوس مشاهده نشد، ولی جمعیت‌های مورد مطالعه واکنش‌های مختلفی به محیط‌های کشت بررسی‌شده نشان دادند؛ به‌طوری‌که بیشترین میانگین تولید کالوس به‌ترتیب در محیط‌های کشت ۱/۲MS دارای یک میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP، MS کامل دارای همین غلظت هورمونی، و MS کامل بدون هورمون رشد، بود. اما در مجموع بین سه جمعیت مورد مطالعه، بیشترین میانگین تولید کالوس در دو جمعیت بنت و چانف مشاهده شد. بین این دو

منطقه نیز میانگین تولید کالوس در جمعیت چانف بالاتر بود. قرارگرفتن منطقهٔ کنشکی در دسته‌ای جداگانه می‌تواند نشان‌دهندهٔ تفاوت بین جمعیت‌ها از نظر توان پاسخ‌دهی به محیط‌های مورد باشد. با مشاهدهٔ اختلاف بین جمعیت‌ها از نظر این صفت می‌توان استنباط کرد که این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت ژنتیکی بین جمعیت‌های این گونه از نظر میزان تولید هورمون‌های درونی باشد. نکتهٔ گفتنی در توجیه این امر این است که این گونه در مناطقی از کشور رویش دارد که دمای هوا در مقایسه با سایر نقاط کشور گرم‌تر است و انتقال گرده به کمک عوامل مختلف به‌طور چشمگیر ممکن نیست. فراوان نبودن گل و تنک‌بودن گل‌آذین در این گونه نیز به این امر کمک می‌کند که انتقال گرده کمتر صورت گیرد. درشت‌بودن نیام‌ها و بذرهای رسیده و جمع‌آوری آن‌ها توسط مردم نیز به کاهش جریان موسوم به جریان ژنی کمک می‌کند.

تولید کالوس و باززایی از آن مستلزم انتخاب ریزنمونه از بافت‌ها یا اندام‌هایی است که دارای سلول‌های مستعد جنینی‌شدن، باشند [۷]. در منابع متعدد، جنین‌های نابالغ و گیاهان حاصل از رویش بذر را منابع باارزشی از این نوع سلول‌ها می‌دانند [۸]. چنانچه این سلول‌ها در موقعیت مناسب قرار گیرند، یا به‌طور مستقیم یا از طریق تشکیل کالوس گیاه تولید کنند، با دو روش اندام‌زایی و جنین‌زایی سوماتیکی باعث تشکیل گیاه می‌شوند. ضمن آنکه این قابلیت را با تقسیمات مکرر در سلول‌های کالوس حفظ می‌کنند [۹، ۱۰]. علاوه بر نقش ژنوتیپ، تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد، به‌ویژه اکسین‌ها در القای باززایی در کشت سلول‌های گیاهی، گزارش شده است [۱۱]. در برخی گونه‌های گیاهی نیز هورمون BAP به میزان زیادی باعث افزایش تولید جنین رویشی می‌شود؛ به‌ویژه اگر در ترکیب با غلظت پایین یک اکسین مانند NAA باشد [۷]. در این مطالعه مشاهده شد که در جمعیت چانف، با افزایش غلظت BAP و کاهش غلظت عناصر غذایی پرمصرف، میزان تولید کالوس نیز افزایش یافت. درحالی‌که در منطقهٔ بنت با ترکیب هورمونی مشابه، افزایش غلظت عناصر غذایی پرمصرف به افزایش تولید کالوس انجامید. در گونهٔ *M. oleifera* نیز مشابه همین گونه، ریزنمونه‌های کاشته‌شده در محیط دارای یک میلی‌گرم در لیتر BAP کالوس‌هایی تولید کرد که از قابلیت باززایی خوبی برخوردار بودند [٦]. کالوس‌های هر دو محیط کشت MS کامل و ۱/۲MS، که دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بودند، توان باززایی بالایی داشتند. به‌نظر می‌رسد کاهش غلظت عناصر غذایی پرمصرف تأثیر منفی بر میزان باززایی نداشته باشد. محققان دیگر نیز اثر کاهش غلظت عناصر غذایی در میزان باززایی را گزارش کرده‌اند. به‌بیان‌دیگر، برخی محققان از دو محیط کشت مختلف که فقط از نظر میزان مواد معدنی با یکدیگر متفاوت بودند برای تولید جنین سوماتیکی،که از راه‌های باززایی در گیاهان است، استفاده کردند که نتیجهٔ به‌دست‌آمده نشان‌دهندهٔ تأثیر مثبت این کاهش، در افزایش میزان تولید جنین سوماتیکی، بود [۷].

در منابع متعدد، از گونه‌های جنس مورینگا، به‌عنوان یکی از منابع تولیدکنندهٔ هورمون‌های رشد گیاهی نام برده شده است. عصارهٔ تهیه‌شده از برگ‌های تازهٔ مورینگا به‌علت داشتن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی چون زآتین، که عضوی از خانوادهٔ سیتوکینین‌هاست، در برخی کشورها در کنار سایر مراقبت‌ها، مثل آبیاری منظم و کوددهی مناسب، به‌عنوان ترکیبی مؤثر برای افزایش ۲۵ـ۳۵ درصدی عملکرد بسیاری از گیاهان زراعی چون پیاز، فلفل قرمز، قهوه، چای، و ذرت به‌کار رفته است. افزایش تعداد بذر در ذرت و افزایش ارتفاع و تسریع در تولید میوه در قهوه از اثرات مشاهده‌شدهٔ این عصاره است [۱۲].

همبستگی‌های دوگانهٔ صفات نشان داد (جدول٦) بین میانگین طول شاخه و تعداد شاخه همبستگی منفی و بالایی وجود دارد. درحالی‌که بین تعداد جوانهٔ فعال و حجم کالوس، و تعداد شاخه همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود داشت. به این معنی که با افزایش تعداد

شاخه و جوانه میزان تولید هورمون‌های درونی، که از جوانه منشأ می‌گیرند، افزایش می‌یابد و به افزایش حجم کالوس در انتهای ساقه‌ها می‌انجامد.

انتقال شاخه‌های تولیدشده به محیط دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌راحتی باعث تولید ریشه شد. ولی با توجه به ترد و شکننده‌بودن ریشه‌ها و به‌منظور تسهیل در خارج‌کردن ریشه‌ها از محیط کشت، غلظت آگار محیط کشت از ۶/۸ گرم در لیتر در محیط شاخه‌زایی، به ۵ گرم در محیط ریشه‌زایی کاهش یافت (شکل ۳).

جدول ٦. همبستگی‌های دوگانهٔ صفات در گیاهان حاصل از تکثیر رویشی گز روغنی (*Moringa peregrina*)

صفات	تعداد شاخه	میانگین طول شاخه	تعداد جوانهٔ فعال	حجم کالوس	طول بلندترین شاخه
میانگین طول شاخه	-۰/۵۱**				
تعداد جوانهٔ فعال	۰/۸**	-۰/۲۶*			
حجم کالوس	۰/۴۳**	-۰/۳۲**	۰/۳۵**		
طول بلندترین شاخه	-۰/۰۸ns	۰/۷۱**	۰/۱۱ns	-۰/۱۲ns	
طول کوتاه‌ترین شاخه	-۰/۵۲**	۰/۸۲**	-۰/۳۶**	-۰/۳۲**	۰/۳۸**

**: معنی‌دار بودن در سطح ۱ درصد؛ *: معنی‌دار بودن در سطح ۵ درصد؛ و ns: غیر معنی‌دار

شکل ۳. رشد مطلوب گیاهچه‌های تولیدشده در محیط ریشه‌زایی و انتقال موفق گیاهچه‌های باززایی‌شده به خاک

نتیجه‌گیری

در گونهٔ مورد مطالعه مشخص شد که BAP بدون همراهی هر نوع اکسین خارجی و فقط با مشارکت فیتوهورمون‌های درونی، در برخی جمعیت‌ها، قادر به تولید میزان بالای کالوس و باززایی از آن است. از این ویژگی می‌توان برای شناسایی پایه‌هایی که سطح هورمون درونی بالاتری دارند استفاده کرد. این تحقیق با هدف انتخاب و شناسایی جمعیت‌ها و محیط‌های مؤثر بر تولید کالوس در آن‌ها می‌تواند مقدمه‌ای باشد برای تولید انبوه این گونه با استفاده از ریز ازدیادی به‌منظور استخراج و بهره‌برداری از متابولیت‌های ثانویهٔ این گیاه، نظیر هورمون‌های آن، که در صورت تحقق این امر و دست‌یابی به توان تولید هورمون‌های مورد نیاز در کشت بافت گیاهی می‌توان از بسیاری از وابستگی‌ها به واردات آن‌ها کاست؛ اما قبل از آن پیشنهاد می‌شود با استفاده از روش‌های نوین اندازه‌گیری هورمون‌های گیاهی چون الایز ا جمعیت‌ها را شناسایی و سپس به تکثیر آن‌ها اقدام کرد.

سپاس‌گزاری

از مسئولان و همکاران محترم مرکز تحقیقات منابع طبیعی ایرانشهر، که از هرگونه کمک در جمع‌آوری نمونه از مناطق سخت و صعب‌العبور دریغ نکردند، و

نشریه جنگل و فراورده های چوب، مجله منابع طبیعی ایران، دوره ۶۶، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲،از صفحه ۱۶۷ تا ۱۷۶

نیز همکاران و مسئولان محترم گروه زیست‌فنّاوری منابع طبیعی مؤسسهٔ تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، که در اجرای این تحقیق از کمک و همراهی‌شان برخوردار بودیم، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کنیم.

References

[1]. Mirzaie-Nodoushan, H., Asadicorom, F., Emam, M., Bakhshi-Khaniki, G. R., Keneshloo, H., and Achak, M. U. (2009). Genetic potentials of drumstick (*Moringa peregrina* (Forssk). Fiori) populations in callus induction immature embryo growth. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 17(1): 29-37.

[2]. Sarasan, V., Cripps, R., Ramsay, M. M., Atherton, C., Mcmichen, M., Prendergast, G., and Rowntree, J. K. (2006). Conservation in vitro of threatened plants progress in the past decade. In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant, 42(3): 206-214.

[3]. Mohan, V., Purohit, M., and Srivastava, P. S. (1995). In vitro micropropagation of Moringa pterygosperma. Phytomorphology, 45(3-4): 253-261.

[4]. Murashige, T., and Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.

[5]. Wareing, P. F., and Philips, I. D. J., (1981). Growth and Differentiation in Plants. 3rd Edn. Peramon Peress, Oxford. New York.

[6]. Islam, S., Akthar Jahan, M. A., and Khatun, R. (2005). In vitro regeneration and multiplication of year-round fruit bearing *Moringa oleifera L*. Journal of Biological Science, 5(2): 145-148.

[7]. Mujib, A., and Samaj, J. (2005). Somatic Embryogenesis. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

[8]. Ahloowalia, B. S. (1986). Limitations to the use of somaclonal variation in crop improvement. In: Semal, J., Somaclonal Variation and Crop Improvement, Martinus Nijhoff Publ., Dordrecht. P. 15-27.

[9]. Halperin, W. (1969). Morphogenesis in cell cultures. Annual Review Plant Physiology, 20(1): 395-418.

[10]. Carman, J. G. (1990). Embryogenic cells in plant tissue cultures: occurrence and behaviour. In Vitro Cellular Developmental Biology, 26(8): 746-753.

[11]. Metheson, S. L., Nowak, J., and Maclean, N. (1990). Selection of regenerative genotypes from highly productive cultivars of alfalfa. Euphytica, 45(2):105-112.

[12]. Price, M. L. (2000). The Moringa Tree. An ECHO Technical note. Published by ECHO, USA.