

سید علی

90998

دانشگاه پیام نور

دانشکده: علوم پایه

گروه: زیست شناسی

عنوان پایان نامه

بررسی امکان ارگانزایی مستقیم و غیرمستقیم در شرایط *In vitro* با استفاده

از روش معمول و روش نوین فتواتوتروفیک در گونه

Eucalyptus gongylocarpa Blakely

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

در رشته: زیست شناسی گیاهی

نگارش

مریم اکبری خباز

اساتید راهنما

دکتر مه لقا قربانلی دکتر محمد حسن عصاره

تیر ماه ۱۳۸۵

۹۰۹۹۵



تصویب نامه

پایان نامه تحقیق علوم

بررسی امکان ارگان زایی مستقیم و غیر مستقیم در شرایط In vitro با استفاده از روش معقول و
روش نوین فناوری خردگراند Eucalyptus conylocarpa

تاریخ دفاع : ۱۴ / ۸ / ۸۵

شروع: ۱۹ / ۷ / ۷۵

اعضای هیات داوران

امضاء

مرتبه علمی

هیات داوران

نام و نام خانوادگی

۱- سرکار خانم مه لقا قربانی

استاد (اهنما)

۲- آقای دکتر محمدحسن عصاوه استاد (اهنما)

۳۳۸۷ / ۲ / ۱۱

وانا

۱۱

استاد داور فارجی نصطفی

۴- آقای دکتر اسدی

نماینده گروه

۵- آقای دکتر (ضا) حاجی حسینی

علم وسیله می سازد و ایمان هدف

علم سرعت می دهد و ایمان جهت

علم انقلاب برون است و ایمان انقلاب درون

تقدیم به

پدر و مادرم

برادرم

و خواهرانم

این تحقیق با مساعدت و پشتیبانی مؤسسه تحقیقات
جنگل‌ها و مراتع صورت گرفت.

سپاس و قدردانی

با نام خالق هستی که هر آنچه داریم از اوست.

در اینجا لازم می‌دانم سپاس قلبی خود را به همه استادی و دوستانی که در طول انجام این پژوهش مرا یاری رساندند تقدیم نمایم:

از استاد راهنمای محترم سرکار خانم دکتر مهلاقربانی که در طول مدت تحصیل و اجرای این پژوهش از راهنمایی‌های ارزنده‌شان بھرمند بودم، کمال تشکر و قدردانی دارم.

از استاد راهنمای ارجمندم جناب آقای دکتر محمد حسن عصاره به خاطر راهنمایی‌ها و مساعدت‌های بی‌دریغشان در اجرای این پایان‌نامه و امکانات مالی، فنی و تخصصی که در اختیار من گذاشتند تشکر و قدردانی می‌نمایم.

از جناب آقای دکتر عباس قمری زارع که صبورانه و دلسوزانه در تمام مراحل پایان‌نامه بویژه در آنالیز داده‌ها و تهیه مقالات مرا یاری رساندند سپاس فراوان داشته و سعادت و سلامتی ایشان را از درگاه خداوند متعال خواهانم.

از سرکار خانم مهندس میترا امام که در انجام کارهای آزمایشگاهی و اجرای این پژوهش مرا یاری رساندند تشکر می‌نمایم.

از سایر همکاران گروه تحقیقات زیست فناوری منابع طبیعی از جمله سرکار خانمها مهندس شهرزاد، مهندس آبروش، مهندس نراقی و مهندس شریعت سپاسگزارم.
ار خانم بھرامی نیز به خاطر زحماتی که در آزمایشگاه متتحمل شده‌اند تشکر می‌کنم.
در پایان از کلیه کسانی که در طول این مدت مرا یاری رساندند تشکر می‌نمایم.

فهرست مطالب

صفحة

حکایہ

فصل اول: مقدمہ

۲۱	۷-۱-۲- موطن اصلی اکالیپتوس و انتشار آن در جهان
۲۴	۸-۱-۲- تاریخچه کاشت اکالیپتوس در ایران
۲۵	۲-۲- اهمیت اقتصادی، کاربردها و فواید اکالیپتوس
۲۹	۳-۲- ویژگی‌های مورفولوژی گونه‌ی <i>Eucalyptus gongylocarpa</i>
۳۰	۴-۲- مسایل و مشکلات تکثیر گونه‌های مختلف اکالیپتوس
۳۱	۵-۲- کشت بافت
۳۱	۱-۵-۲- تاریخچه کشت بافت
۳۲	۲-۵-۲- انواع روش‌های ریزازدیادی
۳۲	۱-۲-۵-۲- ریزازدیادی مستقیم
۳۳	۱-۱-۲-۵-۲- ریزازدیادی مرسوم
۳۳	۲-۱-۲-۵-۲- ریزازدیادی به روش شبه فتواتوتروفیک
۳۵	۴-۲-۵-۲- ریزازدیادی غیر مستقیم (کالوس)
۳۶	۲-۲-۲-۵-۲- اندام‌زایی
۳۷	۶-۲- تاریخچه کشت بافت اکالیپتوس
فصل سوم: مواد و روش‌ها	
۴۰	۳-۱- مواد گیاهی مورد نیاز
۴۰	۳-۲- محیط کشت
۴۰	۳-۱-۲- تهیه محیط کشت
۴۶	۳-۲-۲- نحوه سترون کردن محیط کشت و ابزار کار
۴۶	۳-۲-۳- آماده کردن هود لامیناریر فلو
۴۷	۳-۳- مراحل تهیه جداکشتهای
۴۷	۳-۱- جمع آوری بذرها و ضدعفونی آنها
۵۱	۳-۲-۳- تهیه جداکشتهای گیاهان اکالیپتوس رشد کرده در شرایط طبیعی
۵۷	۴-۳- واکشت ریزنمونه‌های شاخه‌زایی

- ۵۸-۵- مرحله ریشه‌زایی
- ۵۸-۶- انتقال گیاهک‌ها به خاک
- ۵۹-۷- تولید کالوس
- ۵۹-۱-۷- تولید کالوس از دانه‌رستها
- ۵۹-۲-۷- تولید کالوس از جداسکشتهای برگ، گره و میانگرهای نهال‌ها و درختان بالغ
- ۶۰-۸- اندام‌زایی
- ۶۲-۱-۸- انتقال گیاهچه‌های اندام‌زایی شده به خاک
- ۶۳-۹- آزمایشات جهت مقایسه میزان و سرعت رشد گیاه در شرایط عادی و شبه‌فتواتوتروفیک
- فصل چهارم: نتایج**
- ۶۷-۱-۴- نتایج حاصل از تیمارهای سترون‌سازی ریزنمونه‌های *E. gongylocarpa*
- ۷۰-۲-۴- نتایج حاصل از ریزازدیادی
- ۷۰-۱-۲-۴- ریزازدیادی دانه‌رست‌ها و پایه‌های بالغ *E. gongylocarpa*
- ۸۴-۲-۲-۴- ریشه‌زایی گیاهک‌های حاصل از ریزازدیادی
- ۸۷-۳-۴- نتایج حاصل از ریزازدیادی شبه‌فتواتوتروفیک
- ۹۹-۴-۴- نتایج حاصل از ریزازدیادی غیرمستقیم (کالوس)
- ۱۰۸-۵-۴- سازگاری
- فصل پنجم: بحث**
- ۱۲۷-۱-۵- سترون‌سازی نمونه‌ها
- ۱۱۸-۲-۵- ریزازدیادی دانه‌رست و پایه‌های مادری *E. gongylocarpa*
- ۱۱۹-۳-۵- ریشه‌زایی دانه‌رست و پایه مادری *E. gongylocarpa*
- ۱۲۰-۴-۵- ریزازدیادی شبه‌فتواتوتروفیک
- ۱۲۴-۵-۵- اندام‌زایی کالوس
- ۱۲۴- منابع

فهرست جداول

- ۱-۳: ترکیبات محیط کشت MS و Murashige (۱۹۶۲) Skoog
- ۲-۳: هورمونهای مورد استفاده در کشت بافت و حلال آنها
- ۳-۳-۱: استریل بذرها
- ۳-۴: تیمارهای استریل ریزنمونه‌های پایه‌های بالغ *E. gongylocarpa* و اثر آنها بر استقرار و آلدگی ریزنمونه‌ها
- ۳-۵: تیمارهای استریل ریزنمونه نهال‌های *E. gongylocarpa* و اثرات آنها بر استقرار و آلدگی ریزنمونه‌ها
- ۳-۶: هورمونهای مورد استفاده در هر یک از تیمارهای آزمون شاخه‌زاوی
- ۳-۷: هورمونهای بکار رفته در اندام‌زاوی کالوسها
- ۴-۱: استریل بذرها
- ۴-۲: تیمارهای استریل ریزنمونه‌های پایه‌های بالغ *E. gongylocarpa* و اثر آنها بر استقرار و آلدگی ریزنمونه‌ها
- ۴-۳: تیمارهای استریل ریزنمونه نهال‌های *E. gongylocarpa* و اثرات آنها بر استقرار و آلدگی ریزنمونه‌ها
- ۴-۴: تجزیه واریانس آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی در آزمون اول بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه).
- ۴-۵: مقایسه میانگین‌های آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی در آزمون اول بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه)
- ۴-۶: تجزیه واریانس آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی در آزمون دوم بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه).
- ۴-۷: مقایسه میانگین آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی در آزمون دوم بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه)
- ۴-۸: تجزیه واریانس آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی در آزمون سوم بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه).
- ۴-۹: مقایسه میانگین آزمایش اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زاوی دانه‌رسانی

- در آزمون سوم بر شاخص‌های رشد (طول شاخه، تعداد شاخه) *E. gongylocarpa*
- ۴-۱۰- تجزیه واریانس اثر شرایط مختلف محیط‌های فتواتوتروفیک بر شاخص‌های رشد در آزمون اول
- ۴-۱۱- مقایسه میانگین تیمارهای فتواتوتروفیک در آزمون اول
- ۴-۱۲- تجزیه واریانس اثر شرایط مختلف محیط‌های فتواتوتروفیک بر شاخص‌های رشد در آزمون دوم
- ۴-۱۳- میانگین تیمارهای فتواتوتروفیک در آزمون دوم
- ۴-۱۴- اثر تیمارهای هورمونی مختلف بر اندام‌زایی کالوسها

Abbreviations and symbols

°C	degrees Celsius
%	per cent
2,4-D	2,4- dichloro phenoxy acetic acid
2ip	6. γ . γ .dimethyl allyl amino purine
BAP	2,6- Benzyl aminopurine
cm ²	square centimetre
g	gram
GA ₃	Gibberellic acid
h	hours
IBA	Indol- 3- butyric acid
Kin	Kinetin
kg	kilogram
m	metre
mg	milligram
ml	millilitre
mm	millimetre
mm ²	square millimetre
MS	Murashige and Skoog
NAA	α - naphthalene acetic acid
ppm	part per million
PVP	Poly vinyl pyrolidone
SAS	The Statistical Analysis System
v/v	volume per volume

فهرست اشکال

- ۱-۲- نقشه مناطق انتشار گونه‌های اکالیپتوس در استرالیا
- ۲-۲- نقشه مقدار بارندگی در استرالیا بر حسب اینچ ($= 25$ میلی‌متر)
- ۳- نمونه پایه مادری *E. gongylocarpa* در باغ گرم‌سیری دزفول
- ۴- غنچه‌های *E. gongylocarpa*
- ۵- گلهای *E. gongylocarpa*
- ۶- میوه *E. gongylocarpa*
- ۷- بذرها و کپسول‌های *E. gongylocarpa*
- ۸- هود لامیناریفلو آماده جهت شروع کار
- ۹- کشت بذرها روی کاغذ صافی درون پتريهای استریل
- ۱۰- انتقال بذرهای درون کاغذ صافی به ویال‌ها
- ۱۱- اندازه شاخه‌های بازکشت شده *E. gongylocarpa* در تیمارهای شاخه‌زایی
- ۱۲- تصویر اتفاق رشد
- ۱۳- تهیه کالوس از قسمتهای مختلف دانه رست
- ۱۴- تهیه کالوس از برگ
- ۱۵- تهیه کالوس از گره و میانگره
- ۱۶- اشکال مختلف ظروف مورد استفاده در روش ریزازدیادی شبه‌فتواتوتروفیک:
۱. ظرف G7، ۲. درپوش G7 بدون فیلتر، ۳. درپوش G7 فیلتردار
- ۱۷- انتقال گیاهچه‌های حاصل از فتواتوتروف به جیفی‌پات (A: قبل از انتقال و B: بعد از انتقال به جیفی‌پات)
- ۱۸- جوانه‌های انتهایی (راست) و جانبی (چپ) درخت بالغ *E. gongylocarpa*
- ۱۹- جوانه‌های انتهایی (سمت چپ) و جانبی (سمت راست) نهال‌های *E. gongylocarpa* ده روز پس از کشت
- ۲۰- شاخه‌های *E. gongylocarpa* در تیمار ۷ آزمون اول ($0/5 + BAP ۰/۳$)
- ۲۱- مقایسه تیمارهای شاخه‌زایی *E. gongylocarpa* در آزمون دوم از نظر تعداد (IBA $0/۱ + GA_3 ۰/۲۵ + 2ip$)

- و طول شاخه (۰/۲۵ و $GA_3\ 0/01$ در تمامی تیمارها).
- + $BAP\ 0/1$ - شاخه‌های *E. gongylocarpa* رشد کرده در تیمار ۱ (۱) $IBA\ 0/01 + GA_3\ 0/25 + Kin\ 0/2$ میلی‌گرم بر لیتر)
- مقایسه هشت تیمار شاخه‌زایی *E. gongylocarpa* در آزمون سوم از نظر تعداد و طول شاخه (۰/۲۵ و $GA_3\ 0/01$ در تمامی تیمارها).
- $BAP\ 0/1$ - شاخه‌های ریشه‌دار *E. gongylocarpa* رشد کرده در تیمار یک (۱) $IBA\ 0/01 + GA_3\ 0/25 + Kin\ 0/2$ میلی‌گرم بر لیتر)
- ریشه‌های تشکیل شده در سه نوع محیط فاقد هورمون، IBA_1 و IBA_2 ۴-۸-
- ریشه‌های حاصل از ریزنمونه‌های نهال در $IBA\ 1$ میلی‌گرم بر لیتر ۴-۹-
- ریشه‌های حاصل از ریزنمونه‌های پایه‌های بالغ در $NAA\ 1$ میلی‌گرم بر لیتر ۴-۱۰-
- مقایسه رشد گیاهک‌ها در تیمارهای مختلف: (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت (تصویر از بالا) ۴-۱۱-
- مقایسه رشد گیاهک‌ها در تیمارهای مختلف: (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت (تصویر از رویرو) ۴-۱۲-
- ریشه‌های تیمارهای مختلف فتواتوتروف ۴۰ روز پس از کشت (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت. ۴-۱۳-
- ریشه‌های تیمار ۳ فتواتوتروف (G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت).
- انتقال گیاهچه‌های حاصل از روش شبه‌فتواتوتروف به جیفی پات برای طی کردن مراحل سازگاری. ۴-۱۵-
- گیاهچه‌های *E. gongylocarpa* همراه ریشه‌های طویل درون جیفی پات ۴-۱۶-
- ۲۴ روز پس از انتقال به جیفی پات.
- کالوس‌های گره و میانگره پایه‌های بالغ *E. gongylocarpa* ۴-۱۷-
- شروع کالزالیی در ریزنمونه‌های برگی نهال‌های *E. gongylocarpa* ۴-۱۸-
- ریشه‌های هوایی در کالوس‌های برگی نهال‌های *E. gongylocarpa* ۴-۱۹-
- شروع اندام‌زایی در کالوس‌های برگی دانه‌رس است در محیط حاوی $0/5$ میلی‌گرم ۴-۲۰-

بر لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP هم به صورت رشد ریشه و هم به صورت رشد جوانه.

۲۱-۴- اندامزایی در کالوس حاصل از میانگره دانه‌رست *E. gongylocarpa*

۲۲-۴- شروع اندامزایی در کالوس‌های حاصل از برگ دانه‌رستهای *E. gongylocarpa*

۲۳-۴- گیاهچه‌های حاصل از اندامزایی در کالوس‌های حاصل از برگ دانه‌رستهای *E. gongylocarpa*

۲۴-۴- کالوس انتقال یافته به محیط بدون هورمون که به ریشه‌زایی تمایز پیدا کرده است.

۲۵-۴- گیاهچه‌های *E. gongylocarpa* حاصل از کالوس همراه ریشه‌های طویل آماده برای انتقال به گلدان.

۲۶-۴- نمونه گیاهان *E. gongylocarpa* در طی مراحل سازگاری در گلخانه.
۲۷-۴- نمایی از گلدان‌های حاصل از ریازادیادی و ریشه‌زایی در محیط‌های: (۱) فاقد هورمون، (۲) IBA یک میلی‌گرم در لیتر و (۳) IBA دو میلی‌گرم در لیتر دو هفته پس از انتقال به گلخانه.

۲۸-۴- نمایی از گلدان‌های حاصل از ریازادیادی و ریشه‌زایی به ترتیب از راست به چپ در محیط‌های IBA یک میلی‌گرم در لیتر، IBA دو میلی‌گرم در لیتر و فاقد هورمون دو ماه پس از انتقال به گلخانه.

۲۹-۴- نمایی از گلدان‌های حاصل از ریازادیادی و ریشه‌زایی در محیط‌های (۱) فاقد هورمون، (۲) IBA یک میلی‌گرم در لیتر و (۳) IBA دو میلی‌گرم در لیتر، سه و نیم ماه پس از انتقال به خاک.

۳۰-۴- نمایی از گلدان‌های حاصل از ریازادیادی و ریشه‌زایی در محیط‌های (۱) فاقد هورمون، (۲) IBA یک میلی‌گرم در لیتر و (۳) IBA دو میلی‌گرم در لیتر، هفت ماه پس از انتقال به خاک.

۳۱-۴- گلدان‌های حاصل از کالوس (۱): دو ماه، (۲): شش ماه پس از انتقال به خاک

۳۲-۴- گیاهان حاصل از ریازادیادی پایه‌های بالغ، (۱) هنگام انتقال به خاک (۲) یک و نیم ماه پس از انتقال به خاک و (۳) پنج ماه پس از انتقال به خاک.

فهرست نمودارها

- ۴-۱- بررسی اثر تیمارهای (۱) Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۲ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۱:۱} : ۲ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۵ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۶ Kin_{۰/۵} + BAP_{۰/۵} : ۷ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۸ Kin_{۰/۵} + BAP_{۰/۵} و (۲) GA_۳ ۰/۲۵ + 2ip_{۰/۳} + BAP_{۰/۵} به همراه میلی‌گرم در لیتر IBA در تمامی تیمارها) در تعداد شاخه (A) و طول شاخه (B) دانه‌رست E. gongylocarpa در آزمون اول.
- ۴-۲- بررسی اثر تیمارهای (۱) Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۲ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۱:۱} : ۴ Kin_{۰/۵} + BAP_{۰/۵} : ۵ Kin_{۰/۲} + BAP_{۰/۵} : ۶ Kin_{۰/۵} + BAP_{۰/۵} : ۷ Kin_{۰/۵} + BAP_{۰/۵} و (۲) GA_۳ ۰/۲۵ + 2ip_{۰/۳} + BAP_{۰/۵} به همراه میلی‌گرم بر لیتر IBA در تمامی تیمارها) در تعداد شاخه (A) و طول شاخه (B) دانه‌رست E. gongylocarpa در آزمون دوم.
- ۴-۳- بررسی اثر تیمارهای (۱) Kin_{۰/۲} BAP_{۰/۳} : ۲، Kin_{۰/۲} BAP_{۰/۱:۱} : ۴، 2ip_{۰/۳} : ۶ BAP_{۰/۱} 2ip_{۰/۵} : ۵ BAP_{۰/۳} 2ip_{۰/۳} : ۷ Kin_{۰/۲} 2ip_{۰/۳} : ۸، BAP_{۰/۳} 2ip_{۰/۵} : ۹، 2ip_{۰/۳} Kin_{۰/۲} BAP_{۰/۱} : ۱۰ به همراه میلی‌گرم بر لیتر GA_۳ و (۲) میلی‌گرم بر لیتر IBA در تمامی تیمارها) در تعداد شاخه (A) و طول شاخه (B) دانه‌رست E. gongylocarpa در آزمون سوم.
- ۴-۴- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ تعداد شاخه (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.
- ۴-۵- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ طول شاخه (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.
- ۴-۶- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ سطح برگ (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.
- ۴-۷- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ تعداد برگ (۱) G7 بدون فیلتر حاوی

ر
قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.

۴- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ تعداد ریشه (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.

۵- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ وزن تر (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.

۶- مقایسه تیمارهای فتواتوتروف از لحاظ وزن خشک (۱) G7 بدون فیلتر حاوی قند و آگار (۲) G7 فیلتردار بدون قند و دارای آگار (۳) G7 فیلتردار بدون قند و دارای ورمیکولايت.

چکیده:

گونه *E. gongylocarpa* از گونه‌های مهم و سریع‌الرشد برای جنگل‌کاری می‌باشد که تکثیر آن از طریق بذر و یا سایر روش‌های معمول دارای مشکلاتی است. ریزازدیادی این گونه بوسیله کشت جوانه، کالوس و شرایط شبه‌فتواتوتروفیک بررسی شد. بهترین روش سترون‌سازی بذر به ترتیب: ۱۵ دقیقه محلول بنومیل ۰٪/۰، شستشو با مایع ظرفشویی، ۲ ساعت زیر آب چاری، ۲۰ ثانیه الکل اتیلیک ٪/۷۰ و ۲۰ دقیقه هیپوکلریت سدیم ٪/۲ بود. جوانه‌های انتهایی و جانبی نهال‌ها پس از شستشو با مایع ظرفشویی و غوطه‌وری در محلول اسید آسکوربیک به ترتیب در مدت یک و شش دقیقه با ٪/۰/۱ HgCl_2 استریل شدند. جوانه‌های انتهایی و جانبی درختان بالغ با ٪/۰/۱ HgCl_2 به ترتیب در مدت ۲ و ۸ دقیقه استریل گردیدند. محیط کشت MS نصف غلظت نیترات، ٪/۰/۱ BAP، ٪/۰/۲ Kin، ٪/۰/۱ IBA و ٪/۰/۱ GA_3 میلی‌گرم بر لیتر، برای استقرار و تکثیر شاخه‌ها انتخاب شد. بهترین ریشه‌زایی در محیط کشت MS ۱/۲ میلی‌گرم بر لیتر، برای استقرار و تکثیر شاخه‌ها انتخاب شد. عناصر ماکرو همراه با یک میلی‌گرم بر لیتر IBA مشاهده شد. کالوس‌ها در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر Kin و ۲ میلی‌گرم بر لیتر ۲.۴-D تولید شدند. بیشترین تشکیل شاخه روی کالوس‌ها در محیط MS حاوی ٪/۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر از هر یک از هورمونهای BAP و IBA روی داد. سه تیمار با درنظر گرفتن نوع ظرف، محیط و بستر کشت، برای بررسی اثر شرایط شبه‌فتواتوتروفیک بر رشد گیاهچه‌ها انجام شد. میزان رشد درون‌شیشه‌ای گیاهچه‌ها در تیمار ظروف فیلتردار و محیط فاقد قند و بستر ورمیکولايت بیشتر بود.

کلمات کلیدی: ریزازدیادی، ارگان‌زایی، شبه‌فتواتوتروفیک، ریشه‌زایی، هورمون و *Eucalyptus gongylocarpa*

فصل اول

مقدمه

۱-۱-معرفی و اهمیت اکالیپتوس

با توجه به این اصل که گستره جنگل‌های طبیعی کشور به عنوان ذخیره‌گاه ژنتیکی، برقرار کننده تعادل در محیط زیست، ضمن تنوع زیستی بقای گونه‌ها، توقف بیابان‌زایی، بهبود و تعدیل آب و هوا، کاهش آلودگی و ... از ارکان زیربنای توسعه ملی کشور می‌باشد، احداث جنگل‌های دست کاشت گونه‌های سریع‌الرشد همراه با مدیریت صحیح، ضامنی برای توسعه پایدار هر کشور بوده و از فشارهای واردہ بر جنگل‌های طبیعی خواهد کاست. یکی از این گونه‌های سریع‌الرشد اکالیپتوس است.

جنس اکالیپتوس *Eucalyptus* متعلق به خانواده‌ی Myrtaceae بوده و مرکز گسترش آن استرالیا می‌باشد، اما بعضی از گونه‌های آن در سرزمینهای گینه‌نو، تیمور و فیلیپین نیز یافت شده است (Boland و Turnbull ۱۹۸۴). در حال حاضر توسعه‌ی کشت گونه‌های مختلف اکالیپتوس برای جنگلداری و بهره‌برداری در صنایع چوب و کاغذ (عصاره، ۱۳۷۹)، به عنوان بادشکن جهت حفاظت خاک و مزارع، سریع بودن رشد، نرمش اکولوژیکی زیاد، قابلیت کشت در اراضی فقیر، ارزش زیستی، بی‌نیازی از هرس مصنوعی، پایا بودن برگها، خشک کردن باتلاقها به منظور اهمیت بهداشتی، مقاومت در مقابل خاکهای شور، تنوع گونه‌ها، مقاومت در مقابل آتش‌سوزی، تولید چوب برای سوخت، مصارف دارویی، تولید روغن‌های فرار، تولید عسل، تولید مواد تجاری مهم مانند تانن^۱ و کینو^۲، مقاومت در مقابل آفات و امراض (جوانشیر و مصدق، ۱۳۵۱) و سایر کاربردها در سرتاسر جهان رو به افزایش است.

^۱ Tannin

^۲ Kino