

فصل اول

مقدمه

رویشگاههای زاگرس بخش وسیعی از سلسله جبال زاگرس را شامل می‌گردد و جنگل‌های نیمه‌خشک کشور را در خود جای داده است. این ناحیه ۳/۴ درصد از مساحت خاک ایران را پوشش داده و ۶۹ درصد فلور کشور ایران را عناصر این ناحیه تشکیل داده است. تعداد درختان و درختچه‌های آن از ۳۰۰ گونه بیشتر بوده و گونه‌های بومی زیادی در آن دیده می‌شود. از مهم‌ترین درختان جنگلی این ناحیه بلوط، بنه و گلخونک (خنجوك) هستند [۲۸]. این رویشگاه به دلایل متعدد از جمله بهره‌برداری در سالیان طولانی و قرار گرفتن در یک منطقه پر جمعیت، دائماً مورد بهره‌برداری قرار گرفته و امروزه آثار بهره‌برداری‌های بی‌رویه را می‌توان در نمای ظاهری درختان که غالباً توان اکولوژیکی خود را از دست داده‌اند، مشاهده نمود [۲۲].

پسته وحشی با نام علمی *Pistacia atlantica* subsp *mutica* در ایران به عنوان بنه شناخته شده است. این گونه متعلق به جنس *Pistacia* از خانواده *Anacardiaceae* است. این جنس دارای ۱۱ گونه است [۱۹، ۲۳، ۵۶] که همگی آنها از خود تربانتین یا سقز و ترپن ترشح می‌کنند [۶ و ۷۰]. در ایران، از این جنس سه گونه درختی *Pistacia vera*، *P. atlantica* و *P. khinjuk* به طور دست‌کاشت یا خودرو وجود دارد [۱۸ و ۲۳].

درختان بنه بیش از ۲/۴ میلیون هکتار از مناطق زاگرس را پوشش داده‌اند [۳۱ و ۵۲]. این گونه پس از گونه‌های مختلف بلوط در منطقه رویشی زاگرس مهم‌ترین گونه‌ای است که دارای محصولات اصلی و فرعی با ارزش است. بنه چند منظوره بوده و علاوه بر استفاده از چوب آن به عنوان سوخت، کاربردهای دارویی و خوراکی متعددی داشته و دارای میوه‌های خوراکی با عصاره قابل استخراج و قابل استفاده در صنایع داروسازی، تولید چسب‌های گیاهی، رنگ‌ها، آفت‌کش‌ها، خوشبوکننده‌ها و روغن معدنی است. علاوه بر این جهت حفاظت خاک، تنظیم آب‌های سطحی و جنگل‌کاری در زمین‌های خشک مناسب می‌باشد [۲۰ و ۳۱]. از طرف دیگر به خاطر سازگاری بالای آن به شرایط سخت محیطی و مقاومت به بعضی آفات و بیماری‌ها می‌تواند به عنوان پایه‌ای مناسب برای کولتیوارهای پسته استفاده شود [۳۲].

بنه یک گونه درختی است که ارتفاع آن می‌تواند به بیش از ۱۵ متر برسد و می‌تواند در نواحی خشک و نیمه‌خشک رشد کند. این گونه منبع با ارزشی از صمغ چسبی است که در درمان بیماری‌های معده مؤثر است. این گونه حاوی تری‌گلیسریدها، ترکیبات شیمیایی اولئوزین‌ها و روغن‌های ضروری می‌باشد که این روغن‌ها منبع طبیعی آنتی‌اکسیدانت‌ها هستند [۴۸].

درختان پسته نمی‌توانند از طریق قلمه‌زنی و پیوند زدن به راحتی تکثیر شوند [۵] همچنین به لحاظ عدم حضور درختان مادری و تولید بذر کافی، تجدید حیات طبیعی در آنها در حال حاضر از وضعیت چندان مناسبی برخوردار نیست و رو به انحطاط هستند [۱۰]. از طرف دیگر، قطع درخت، چرای دام و بهره‌برداری از میوه و شیرابه درخت بنه اجازه استقرار و تجدید حیات را از طبیعت سلب نموده و آینده این جنگل‌ها را تهدید می‌کند. برخی گزارش‌های موجود حکایت از تنزل کیفیت و سیر قهقرایی این جنگلها دارد و استفاده و فرآوری بر روی محصول این درخت علیرغم خصوصیات دارویی و غذایی بالای آن همچنان محدود و سنتی می‌باشد [۲۷].

بنابراین، با توجه به کمبود گیاهان اولیه‌ی عالی و اینکه تکثیر درختان پسته از طریق کشت بذر تا تولید گیاه بارده به زمان نسبتاً طولانی احتیاج دارند، برای تولید سریع گونه‌های مفید و تسریع در زمان باردهی، تلاش‌هایی به منظور بررسی تکثیر غیر جنسی پسته صورت گرفته است. آسانی و سرعت تکثیر از مزایای روش تکثیر غیر جنسی است، علاوه بر این در برخی از گونه‌ها تنها روش برای حفظ و جوان‌سازی آنها محسوب می‌شود [۶۶].

تکثیر غیر جنسی در دو زمینه‌ی ریزازدیادی و ریشه‌دار کردن قلمه‌ها می‌باشد اما موفقیت ریشه‌دار کردن قلمه‌ها ناچیز بوده و دارای محدودیت‌های قلمه‌گیری از درخت مادری، محدودیت فصل رشد، تولید فقط یک نهال از هر قلمه، احتمال آلودگی نهال‌ها و ... می‌باشد و ریزازدیادی فواید زیادی نسبت به روش قلمه‌زنی دارد و به وسیله‌ی آن می‌توان نرخ تکثیر را بالا برد و مواد گیاهی عاری از ویروس و پاتوژن تولید کرد. از این رو توسعه و بهینه‌سازی دستورالعمل‌های کشت بافت و ریزازدیادی مؤثر برای پسته می‌تواند کمک مهمی برای بهبود کیفیت تولید، ایجاد گیاهان عاری از بیماری و تولید گیاهان کلونال و یکنواخت در دوره زمانی کوتاه باشد و همچنین می‌تواند شروعی برای تلاش‌های حفاظت ژرم پلاسما پسته و استقرار مجدد گیاهان در معرض خطر باشد. بنابراین چندین روش آزمایشگاهی برای آغاز و تکثیر ریزنمونه‌های جنس پسته انجام شده است و تکنیک‌های مختلف تکثیر آزمایشگاهی به صورت متناوب برای ریزازدیادی آنها بررسی شده‌اند و ریزازدیادی گونه‌های مختلف پسته از طریق اندام‌زایی و جنین‌زایی به دست آمده است [۶۶].

اصطلاح کشت بافت گیاهی به طور عمومی به کشت گیاهان، بذور و اجزای گیاهی (بافت-ها، اندام‌ها، جنین‌ها، تک سلول‌ها، پروتوپلاست‌ها و ...) به صورت آزمایشگاهی در محیط‌های غذایی خاص و تحت شرایط استریل اطلاق می‌شود. استفاده از تکنیک کشت بافت برای تکثیر گونه‌های پسته به طور قابل توجهی در طی ۲۰ سال گذشته رو به افزایش بوده است. کشت بافت

پسته که کالوس‌ها، شاخه‌ها و نهایتاً گیاهان مناسب را تولید کند، به عنوان یک روش جدید و پیشرفته پیشنهاد شده است. فنون رایج کشت‌بافت و ریزازدیادی، امکان تولید هزاران گیاه را از یک سلول و یا قطعه کوچک بافت در زمان نسبتاً کوتاهی فراهم می‌آورند. مزیت مهم استفاده از روش‌های تکثیر کلون در شرایط استریل نسبت به روش‌های مرسوم این است که در زمان و فضای نسبتاً محدود، از یک فرد می‌توان جمعیت بزرگی به دست آورد [۲۱ و ۳۴].

ریزازدیادی از طریق کشت آزمایشگاهی جنبه مهمی از کاربردهای این تکنیک است که امروزه از آن در سطح وسیع برای تکثیر گونه‌های جنگلی، باغی و به ویژه گیاهان زینتی استفاده می‌شود. در حال حاضر از این تکنیک به عنوان ابزاری کارآمد برای تکثیر رویشی گیاهان با هدف تکثیر سریع و همچنین بقای نسل گونه‌های نادر و در حال انقراض استفاده می‌شود. به کمک این روش می‌توان در مدت زمانی کوتاه و فارغ از محدودیت‌های فصلی به تعداد زیادی گیاه دست یافت که چنین سرعت تکثیر و یکنواختی گیاهان را در هیچ یک از روش‌های تکثیر رویشی در شرایط طبیعی نمی‌توان انتظار داشت [۱۷].

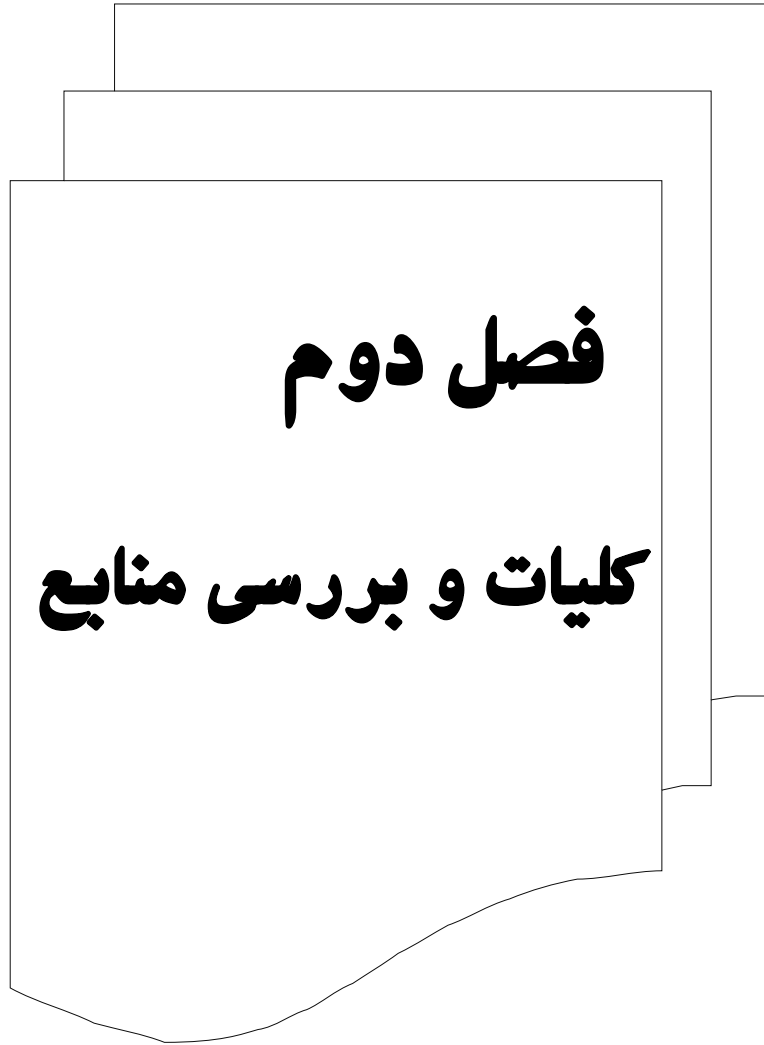
براساس آمار سازمان خوار و بار جهانی (فائو، ۲۰۰۵) از تکنیک ریزازدیادی در ۲۱ کشور آفریقایی، ۱۹ کشور آسیایی، ۹ کشور اروپایی و ۹ کشور آمریکایی برای تکثیر تجاری برخی گیاهان نظیر تولید پایه‌های درختان میوه، تولید گیاهان عاری از بیماری، تکثیر گیاهان زینتی و گل‌های شاخه بریده استفاده می‌شود و سالانه از طریق مبادلات این نوع گیاهان، درآمد زیادی عاید این کشورها می‌شود [۱۷].

با وجود پیشرفت‌های زیاد در ریزازدیادی گونه‌های پسته، هنوز نتایج به دست آمده نسبت به گونه‌های میوه‌ای دیگر، خیلی خوب نیستند و ریشه‌زایی گیاهچه‌ها معمولاً با مشکل مواجه است [۳۵].

این تحقیق با هدف دستیابی به روشی جهت تکثیر درون‌شیشه‌ای بنه و ازدیاد سریع و انبوه سالم‌ترین، قوی‌ترین و پر رشدترین نهال‌ها و همچنین ایجاد زمینه‌ای جهت گسترش تحقیقات بر روی این گونه انجام گرفته است.

۱-۲- اهداف تحقیق

- ۱) بررسی پاسخ ژنوتیپ‌های مختلف بنه به محیط‌های کشت شاخه‌زایی و ریشه‌زایی.
- ۲) بررسی پاسخ ریزنمونه‌های مختلف بنه به محیط‌های کشت شاخه‌زایی و ریشه‌زایی.
- ۳) بررسی تأثیر نوع تنظیم‌کننده‌ها بر شاخه‌زایی ریزنمونه‌های مختلف بنه.
- ۴) بررسی تأثیر نوع اکسین بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های شاخه‌زا شده.
- ۵) بررسی تأثیر کاربرد ترکیبات آنتی‌اکسیدان در محیط کشت، برای جلوگیری از اکسیداسیون فنولی.



فصل دوم

کلیات و بررسی منابع

۲-۱-۱- بنه

۲-۱-۱-۱- خاستگاه و تاریخچه پسته

درختان پسته بومی آسیا و آسیای صغیر، از سوریه تا کوه قفقاز و افغانستان هستند و خاستگاه آن‌ها مدیترانه، خاورمیانه و شرق افغانستان است. شواهد باستان‌شناسی در ترکیه نشان می‌دهد که میوه‌های این گونه‌ها از گذشته مورد استفاده بوده‌اند [۵۷].

پسته ابتدا از سوریه به ایتالیا منتقل شد و سپس به دیگر کشورهای مدیترانه گسترش پیدا کرد و اولین بار در سال ۱۸۵۴ توسط کارلس ماسون^۱ به ایالات متحده وارد شد و تولید تجاری آن در اواخر سال ۱۹۷۰ شروع شد و به سرعت توسعه پیدا کرد [۵۷].

پیدایش پسته در ایران به ۴-۵ هزار سال پیش برمی‌گردد و گمان می‌رود که درخت پسته حدود ۳-۴ هزار سال قبل در ایران اهلی شده و مورد کشت و کار قرار گرفته است. به روایت اسناد تاریخی خاستگاه اصلی پسته در ایران، شمال شرق خراسان بزرگ و جنگل‌های سرخس می‌باشد. در سال ۱۹۳۰ پسته ایران به آمریکا برده شد و سال‌ها به عنوان یک محصول تشریفاتی و نه تجاری، رواج داشت [۱ و ۲۶].

پسته وحشی یک گونه درختی ایرانی-تورانی است که از جنوب غربی آسیا تا شمال غربی آفریقا پراکنده شده است و از نظر اکولوژی انعطاف‌پذیری بالایی دارد [۶۹].

۲-۱-۲- مناطق و سطح انتشار بنه

بنه از جمله گونه‌های وحشی پسته می‌باشد که انتشار آن از جزایر قناری و کشورهای ساحل دریای مدیترانه شروع می‌شود و تا آسیای صغیر، سوریه، قفقاز، ایران، افغانستان و پاکستان امتداد می‌یابد [۱۸]. مناطق مهم تولیدکننده پسته شامل: ایران، ترکیه، آمریکا و سپس سوریه، هند، یونان، پاکستان و مناطق دیگر هستند [۵۳].

¹carles mason

سطح جنگل‌های بنه کشور ایران برابر ۲ تا ۲/۵ میلیون هکتار می‌باشد [۳، ۷ و ۵۶]. پسته وحشی در دامنه کوه‌های استانهای شرقی، غربی و جنوب غربی ایران می‌روید [۱۵] و ارتفاعات قلاجه در غرب کشور (از شمال غرب تا جنوب غربی استان‌های کرمانشاه و ایلام)، یکی از مهم‌ترین زیستگاه‌های پسته وحشی در ایران است [۳۱]. این گونه در بسیاری از استان‌های کشور از جمله: ایلام، کرمانشاه، لرستان، کردستان، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی، فارس، کرمان، بلوچستان و خراسان رشد می‌کند [۵۳].

۲-۱-۳- گیاهشناسی

بنه با نامهای بومی پسته وحشی، ون، سقز و چاتلانقوش، درختی دوپایه، سازگار با آب و هوای خشک، مناسب زمینهای سبک و سنگلاخی بوده و به شدت نورپسند است که به همین دلیل بیشتر در شیب‌های جنوبی دیده می‌شود [۱ و ۱۳]. دامنه رویش ارتفاعی این گونه گسترده است و در ایران بین ۳۰۰۰-۹۰۰ متر از سطح دریا رویش دارد [۱۰].

بنه با نام علمی *Pistacia atlantica* subsp *mutica* متعلق به جنس *Pistacia* و خانواده Anacardiaceae است. خانواده Anacardiaceae شامل ۸۷۵ گونه‌ی توزیع شده در ۷۰ جنس است. جنس پسته به وسیله برگهای پرمانند و ترشحات رزینی شناخته شده [۵۵] و شامل حداقل ۱۱ گونه است اما برخی محققان تا ۱۵ گونه را نیز مشخص کرده‌اند [۷۳].

پسته وحشی درختی خزان‌کننده یا نیمه همیشه‌سبز است و سرعت رشد آن آهسته تا متوسط است [۵۷]. این گونه در مناطقی با بارندگی بین ۱۶۰-۱۰۰ میلی‌متر در سال، رشد می‌کند [۷۵]. برگ‌های آن به صورت شانه‌ای فرد و گل‌آذین خوشه‌ای است و دارای برگ تکی در نوک با ۱۱-۷ برگچه می‌باشد. گلدهی این گیاه در اوایل بهار و زودتر از پسته‌اهلی صورت می‌گیرد [۱۳ و ۵۷]. جوانه گل بنه بر روی شاخه‌های یکساله تشکیل می‌شود و در سال دوم یعنی بر روی شاخه‌های دوساله به بار می‌نشیند. شروع دوره تمایزیابی جوانه‌های گل در بنه از اوایل اردیبهشت است. فصل باز شدن گل نسبت به فصل تمایزیابی جوانه‌ها، دیرتر و در بهار سال بعد است. کیسه جنینی بنه از نوع پلی‌گوم^۱ (۸ هسته‌ای) است. فرایند تکامل آن بدین صورت است که یک سلول با شکل بارز و مشخص در قسمت وسط بافت خورش، در موقعیتی به طرف بن (شالاز) شروع به رشد می‌-

^۱ تیره علف‌هفت‌بند (Polygonaceae)

کند و این در زمانی است که بافت نوسل کامل شده باشد (در اوایل بهار و قبل از باز شدن کامل خوشه گل ماده) [۱۲].

هر گل به میوه‌ای با پریکارپ معطر تبدیل می‌شود که جزء میوه‌های روغنی با فرم کروی یا کروی کشیده است. میوه‌های بینه صورتی رنگ هستند و هنگام رسیدن آبی تیره یا ارغوانی هستند و به سه قسمت پوسته خارجی، پوسته سخت (استخوانی) و مغز تقسیم می‌شوند. بینه همانند پوسته اهلی دارای مکانیسم خاصی در تناوب باردهی و یک سیکل بذردهی نامتعارف است و بسته به شرایط محیط ممکن است کوتاه یا بلند شود [۵۷ و ۱۳]. در این نوع تناوب سالی که درخت محصول فراوانی تولید می‌کند، جوانه‌های گل موجود که در سال بعد به میوه تبدیل خواهند شد، در طول تابستان ریزش می‌کنند. این ریزش با توجه به میزان باردهی و شرایط محیطی و نیز ویژگی‌های ژنتیکی هر ژنوتیپ بارور تا حدی متغیر است که به تناوب متفاوت باردهی بینه منجر می‌گردد [۱۲].

گرده‌افشانی بینه به علت دوپایه بودن این گیاه به صورت غیر خودی انجام می‌شود و به عبارتی بینه گیاهی کاملاً دگرگشن است. از این رو گرده توسط عوامل خارجی از گل نر به سطح کلاله گل ماده حمل می‌شود. گل‌های نر و ماده بینه به هیچ‌گونه ابزار تشویق حشرات گرده‌افشان مجهز نیستند و گل‌های آن‌ها فاقد گلبرگ و غده‌های شهدساز می‌باشد، از طرف دیگر ویژگی ساختمانی و فرم و نیز چگالی و ویژگی سطح گرده بینه، آن را برای حمل توسط باد مناسب ساخته است (آنموفیل^۱). در مقابل ساختمان سطح کلاله بینه همچون پسته خوراکی چنان تعبیه شده است که گرده‌های حمل شده توسط باد به راحتی جذب آن می‌شوند [۶ و ۵۰]. دوره گرده‌افشانی مؤثر در بینه ۴۸ ساعت است [۱۲].

ارتفاع گونه‌های *P. vera* (پسته اهلی)، *P. mutica* (بینه) و *P. khinjuk* (خنجوک) به ترتیب ۴-۶، ۱۰-۱۲ و ۳-۷ متر است [۲۵] و ریشه‌زایی آن‌ها به صورت محوری و عمودی است و تا عمق بیش از ۲ متر داخل خاک فرو می‌رود از این رو قابلیت سازش با دوره‌های طولانی خشکسالی را دارند [۶].

جنس پسته را براساس تعداد کروموزوم‌ها به سه گروه: *P. lentiscus* (۲n=۲۴)، *P. atlantica* (۲n=۲۸) و *P. vera* (۲n=۳۰) تقسیم کرده‌اند [۶۷].

^۱Anemophylia



شکل ۱-۲- تصویر شماتیک گیاه شناسی بنه.

۲-۱-۴- گونه‌های مختلف جنس پسته

زوهاری^۱ (۱۹۵۲) در تقسیم‌بندی گونه‌های جنس پسته، اعلام داشت که جنس پسته به چهار گروه *P. lenticella*، *P. lentiscus*، *P. terebinthus* و *P. butmela* تقسیم می‌شود. او گونه‌های *mexicana* و *texana* را به گروه *lenticella*، گونه‌های *lentiscus*، *weinmannifella* و *saporate* را به گروه *lentiscus* و گونه *atlantica* را به گروه *butmela* و گونه‌های *vera*، *terebinthus*، *khinjuk*، *palaestina* و *chinesis* را متعلق به گروه *terebinthus* دانست [۷۶].

جنس *Pistacia* شامل ۱۱ گونه شامل: *P. atlantica*، *P. cabulica*، *P. chinesis*، *P. terebinthus*، *P. falcata*، *P. integerrima*، *P. vera*، *P. kurdica*، *P. mutica*، *P. palaestine*، *P. terebinthus* و *P. khinjuk* می‌باشد [۳۸].

در ایران، از این جنس سه گونه درختی *P. vera*، *P. atlantica* و *P. khinjuk* به طور دست-کاشت یا خودرو وجود دارد [۱۸ و ۲۳].

۲-۱-۵- واریته‌های مختلف بنه

سه واریته برای بنه شناسایی شده است که عبارتند از: موتیکا^۲، کردیکا^۳ و کابولیکا^۴. معروفترین و رایج‌ترین واریته بنه در ایران از نظر پراکنش و اهمیت گونه، موتیکا می‌باشد که بیش

^۱Zohary
^۲Mutica
^۳Kurdica
^۴Cabulica

از ۹۵ درصد درختان بنه را به خود اختصاص داده است و سطحی معادل ۲/۴ میلیون هکتار از کشور را می پوشاند [۱۶ و ۴۴].

۲-۱-۶- تولید و اهمیت جهانی پسته

تولید جهانی پسته در سال‌های اخیر روند صعودی داشته است. تولید کل پسته در جهان در سال ۲۰۰۲، ۵۹۳/۵ ML^۱ بوده است و ایران به عنوان بزرگ‌ترین تولید کننده‌ی پسته شناخته شده است (۲۵۳/۵ ML) و تولید کننده‌های دیگر به ترتیب عبارتند از: آمریکا، سوریه، ترکیه، یونان و ایتالیا [۶۴].

پسته یکی از محصولات صادراتی و استراتژیک کشور ایران محسوب می‌شود. بر اساس گزارش سالانه سازمان خواروبار جهانی (فائو، ۲۰۰۴) ایران با بیش از ۴۱ درصد کل صادرات جهان، در صدر کشورهای تولید کننده و صادر کننده این محصول در جهان قرار دارد. اهمیت اقتصادی پسته در مدیترانه و سراسر دنیا روبه رشد است به نحوی که در طی ۲۰ سال گذشته، تولید آن در ایران ۸/۷ و در آمریکا ۷/۸ برابر افزایش یافته است. دلیل اصلی توسعه آن ارزش غذایی میوه‌ها، وجود گونه‌های وحشی، توانایی برای دورگ‌سازی بین گونه‌ای و از همه مهم‌تر مقاومت بالا به خشکی در گونه‌های این جنس است که اجازه کشت آن‌ها را در زمین‌های غیر حاصلخیز، سنگلاخی و سرایشی‌ها را می‌دهد [۴۵].

۲-۱-۷- اهمیت بنه

۲-۱-۷-۱- اهمیت اقتصادی و دارویی بنه

گونه پسته وحشی یا بنه هر چند به دلیل واقع شدن در مناطق خشک و نیمه خشک کشور فاقد چوب الواری است، اما به دلیل اقتصادی بودن صمغ و بذر تولیدی آن از معدود گونه‌هایی است که می‌تواند مورد توجه باشد. در خصوص پیشینه بهره‌برداری از الثورزین سقز در ایران سخن از چندین قرن در میان است. برخی از منابع تاریخی، استحصال و تجارت سقز را به ۴۰۰ سال قبل از میلاد نسبت داده‌اند. از آنجا که مردم هر سامان به مرور زمان و بیشتر از دیگران اسرار نهفته در

¹Millions of libres

طبیعت پیرامون خود را دریافته‌اند و از مواهب آن سود می‌جسته‌اند، مردم مناطق کردنشین و بخش شمالی سلسله جبال زاگرس نیز طی سالیان قبل به خواص مفید و شفابخش سقز درختان بنه پی برده‌اند و در قالب تفکر اصیل و سنتی خود این خواص را با رمز و رازهایی از درختان و جنگل‌های بنه آمیخته‌اند [۲].

میوه‌های پسته وحشی خیلی کوچک هستند و ارزش تجاری ندارند با این وجود دارای ارزش تغذیه‌ای بالایی هستند [۶۸] و در برخی کشورهای مناطق خاورمیانه از قبیل ایران و ترکیه مصرف می‌شوند و داراری پتانسیل بالایی برای سلامت عمومی هستند [۳۸]. بنه دارای صمغ با ارزشی به نام سقز است که در مصارف دارویی، صنعتی و خوراکی نقش بسزایی دارد. میوه درختان بنه بیشتر استفاده سنتی دارد و بخشی از نیازهای غذایی، دامی و مالی روستائیان را تأمین می‌کند [۱۹].

یک نوع عصاره رزینی از ساقه این درختان استخراج می‌شود که در صنایع داروسازی، چسب‌ها، رنگ‌ها، آفت‌کش‌ها، خوشبوکننده‌ها و روغن‌های معدنی مورد استفاده می‌باشد [۵۲]. رزین پسته وحشی سقز نامیده می‌شود که مقدار قابل استخراج آن از یک پایه درخت بنه حدوداً ۲۰۰ گرم می‌باشد [۵۱] و برای مصارف مختلف سنتی و صنعتی شامل تغذیه و دارو استفاده می‌شود [۶۸]. همچنین در تولیدات مرتبط به هم شامل: حفظ درخشندگی لوسترها، صنایع شیشه‌سازی و فلزات و همچنین در ترکیبات آرایشی و عطری، خمیردندان و به طور سنتی به عنوان آدامس (سقز) برای رفع خشکی لب، بیماری‌های معده و ضد عفونی سیستم تنفسی به کار برده می‌شوند. به علاوه در درمان آگزما، فلج، عفونت گلو، سنگ کلیه، یرقان، آسم، تب استفاده می‌شود. از سوی دیگر ترشحات خام، روغن‌های ضروری و بعضی ترکیبات تریترپنوئیدی^۱ بنه دارای فعالیت‌های ضد قارچی هستند [۴۳].

گونه‌های پسته به واسطه‌ی خصوصیات دارویی‌شان از روزگار باستان شناخته شده‌اند و عصاره آنها فعالیت ضد باکتریایی خوبی داشته و قوی تر از اریترومایسین و کلوک سیلین عمل نموده و استفاده از آنها به عنوان داروی ضد باکتری کاملاً محتمل بنظر می‌رسد [۱۱ و ۵۷]. پسته وحشی حاوی ترکیبات ترپن می‌باشد، این ترکیبات دارای بیشترین گوناگونی در بین ترکیبات شیمیایی موجود در گیاهان هستند و در دفاع و ارتباط گیاهان نقش دارند و در واکنش به شرایط خشکی از درختان ترشح می‌شوند [۶۹].

¹Triterpenoid

۲-۱-۷-۲- ترکیبات و ارزش روغن بانه

اولین بار پیشنهاد بررسی امکان استخراج روغن از بذر بانه توسط جهاد سازندگی استان فارس در سال ۱۳۶۰ مطرح گردید که این موضوع توسط شورای عالی کشاورزی کشور تأیید نگردید [۸].

مواد استخراج شده از درختان بانه رزین و ترکیبی لیپیدی هستند. رزین توسط مجاری اختصاصی بانه به نام داکت^۱ منتقل می‌گردد و در سه لایه حد فاصل کامبیوم تا پریدرم ذخیره می‌شود. در روغن اسانسی بانه بیش از ۲۰ ترکیب وجود دارد. در یک بررسی مشخص شد که در رویشگاههای استان لرستان و ایلام ۹ ترکیب و در رویشگاه استان کرمانشاه ۸ ترکیب آن غلظتی بیش از ۳ درصد داشته و ارزش صنعتی دارند و آلفا پینینا^۲ به تنهایی حدود ۹۰ درصد ترکیب را به خود اختصاص داده است [۲۴].

از میوه درخت بانه به عنوان آجیل استفاده شده و روغن نیز از آن استخراج می‌شود. مغز بانه بیش از ۶۵ درصد میوه بانه را شامل می‌شود. میزان روغن موجود در مغز میوه بانه حدود ۵۰ تا ۶۰ درصد و برای کل میوه برابر ۲۵ تا ۳۰ درصد گزارش شده است [۱۸ و ۵۱]. این روغن قابلیت استفاده شدن به جای روغن زیتون را دارد و به منظور تولید تجاری آن، جنگل‌های پسته وحشی باید به جنگل‌های صنعتی تبدیل شوند [۴۸ و ۵۲].

در برخی مطالعات، اسید اولئیک و اسید لینولئیک به عنوان اسیدهای چرب غالب در روغن مغز میوه بانه و نیز اسید پالمیتیک به عنوان اسید چرب اشباع غالب این روغن شناسایی شدند. با توجه به غالب بودن این دو اسید چرب و ناچیز بودن مقدار اسیدلینولئیک در آن، روغن مغز بانه در گروه روغن‌های اسید اولئیک لینولئیک قرار می‌گیرد. وجود مقدار زیادی از اسیدهای چرب غیر اشباع به ویژه اسید چرب ضروری (اسید لینولئیک) در روغن مغز بانه نشان از ارزش تغذیه‌ای بالای این روغن دارد. همچنین با توجه به پایین بودن شاخص اکسایش‌پذیری روغن بانه، این روغن جزء روغن‌های پایدار می‌باشد. از طرف دیگر روغن بانه منبع غنی از توکوفرول می‌باشد که اجزای مهم و کاربردی مواد غیر صابونی روغن‌های گیاهی هستند و نقش آنتی‌اکسیدان دارند و به عنوان ویتامین E فعال هستند [۱۸ و ۴۱].

¹Duct

² α -Pinine

پس از استخراج روغن از بذرها، تفاله‌های آن نیز که ۷۵ درصد میوه‌ها را تشکیل می‌دهند ارزش غذایی بالایی دارند به طوری که مقدار پروتئین این کنجاله، ۹/۱۴۴ درصد است بنابراین می‌تواند برطرف کننده نیازهای کشورمان باشد [۵۲].

۲-۱-۲-۳- اهمیت زیست‌محیطی و اکولوژیکی بنه

جنگل‌های زاگرس اگرچه از نظر تولید چوب مطرح نیستند، اما از جنبه زیست‌محیطی، حفاظت منابع آب و خاک، پناهگاه حیات وحش و تولید محصولات فرعی متنوع نقش انکارناپذیری در پایداری اکوسیستم و معیشت ساکنان این مناطق ایفا می‌کنند. این جنگل‌ها همچنین نقش بسیار مهمی در تثبیت خاک، جلوگیری از فرسایش و حفظ پوشش گیاهی دارند [۱۰]. از طرف دیگر، بنه اغلب به عنوان یک گونه مقاوم به نماتد گره ریشه برای پایه برای درختان پسته در بیشتر مناطق ایران مورد استفاده قرار می‌گیرد [۳۸ و ۷۵].

۲-۱-۸- روش‌های تکثیر سنتی درختان پسته

در روش‌های کاشت سنتی و متداول، پسته به وسیله پیوند زدن جوانه‌ها و قلمه‌های ریشه-دار شده روی پایه‌ها و همچنین از طریق بذر تکثیر می‌شود [۶۴]. از نظر گیاهشناسی پسته را به چند طریق به وسیله خواباندن شاخه، به وسیله پاجوش و کاشت بذر می‌توان تکثیر کرد ولی در باغبانی و از نظر اقتصادی تنها راه ازدیاد درختان پسته کاشت بذر و پیوند نهال‌های حاصل به انواع مرغوب پسته می‌باشد که شامل کاشت در زمین اصلی، کاشت در خزانه و کاشت در کیسه‌های پلاستیکی می‌باشد [۶].

۲-۱-۹- مشکلات تکثیر سنتی درختان پسته

بنه به عنوان یک گونه سالخورده در نواحی خشک و نیمه‌خشک وجود دارد. این گونه با وجود مقاومت بالا به شرایط سخت محیطی مانند تحمل به شوری و نماتد، با مشکلات زیادی برای

تکثیر مواجهه است که احتمالاً به خاطر کمبود بذر و جوانه‌زنی متغیر است. در تکثیر رویشی پسته از طریق پیوند جوانه‌ها به پایه‌های مناسب نیز درصد تکثیر بسیار پایین است [۴۰ و ۵۹].

استفاده بیش از حد و غیر اصولی از درختان پسته وحشی به منظور استخراج عصاره و استفاده‌های دیگر، تکثیر آن را با مشکل مواجه ساخته است [۳۱]. سن اغلب درختان پسته وحشی بیش از ۵۰ سال است و در سال‌های اخیر باززایی آن به جز در برخی مناطق که خارج از دسترس حیوانات اهلی هستند، با مشکل مواجه است [۶۸].

مشکلات اصلی کاشت پسته عبارتند از: گلدهی ناکافی درختان نر، همزمان نبودن گلدهی درختان نر و ماده (درختان نر گلدهی زودتر از درختان ماده دارند^۱)، نسبت ناصحیح درختان نر و ماده و غیره [۷۱].

۲-۱-۹-۱- مشکلات تکثیر جنسی

تکثیر بنه از طریق بذر با مشکلاتی از قبیل تولید میوه‌های پوک مواجه است به علاوه با توجه به دگرگشتن بودن این گونه‌ها، نتاج حاصل از تکثیر جنسی موجب تنوع ژنتیکی پایه‌ها می‌شود و پیوند می‌تواند منجر به تولید پایین به خاطر ناسازگاری بین جوانه‌های پیوند شده و پایه‌ها شود [۵۹].

درختان پسته دو پایه هستند و گل‌های نر و ماده روی درختان متفاوتی قرار دارند. بنابراین برای تولید میوه، درختان نر و ماده هر دو باید وجود داشته باشند و برای کشت صنعتی آن‌ها بایستی یک درخت نر به ازای ۸-۱۱ درخت ماده وجود داشته باشد بنابراین ۱۰ درصد از پسته‌های کشت شده باروری ندارند [۴۵]. بین گونه‌های پسته هیچ ناسازگاری وجود ندارد و همه درختان نر ممکن است ماده‌ها را گرده‌افشانی کنند و لقاح آن‌ها بین ۴۴ و ۴۸ ساعت بعد از گرده‌افشانی انجام می‌شود (به خاطر رشد آهسته لوله گرده) [۲۹].

مشکلات زیادی در مراحل مختلف تولیدمثل، تلقیح، رشد و نمو و تکامل میوه و بذر بنه وجود دارند که مهم‌ترین آن‌ها عبارتند از: وجود گل‌های ناقص (که اغلب در قسمت‌های پایین

^۱ پروتاندی

خوشه و خوشه‌چه‌ها قرار دارند)، عدم تجانس والدین به صورت گامتوفیتیک، تخریب سلول‌های مادری مگاسپور، عدم تکامل بافت کلاله، نبودن کیسه جنینی در جایگاه اصلی خود، وجود کیسه جنینی همراه با مواد و ذرات نامشخص و اضافی، وجود کیسه جنینی ناقص، تشکیل نشدن جنین، تخریب جنین پس از گذشت مدتی از رشد و نمو و تشکیل نشدن آندوسپرم و تخریب آن در مراحل اولیه رشد. البته درصدی از ناباروری بنه به شرایط محیطی ارتباط دارد که در زمان باروری گل موجب کوتاهی دوره بلوغ گل، خشک شدن سطح کلاله و سرانجام گرده‌افشانی ناقص می‌شود [۱۳].

فقط درصد کمی (۳۰ درصد) از بذرها تولیدی درخت بنه، کامل می‌شوند و در پایان دوره رویش به سبز زیتونی تغییر رنگ می‌دهند و مابقی به صورت نارس و به رنگ قرمز یا زرد بر روی خوشه‌های بذر باقی می‌مانند [۹]. با توجه به عدم کمبود پایه‌های نر بنه، روش انتقال گرده به گل‌های ماده بسیار طبیعی است و بیشترین درصد پوکی بنه به ناسازگاری بین والدین و شرایط محیطی نسبت داده می‌شود همچنین زمان گرده‌افشانی، سن گل و شرایط محیطی در زمان گرده‌افشانی نیز در این مسئله دخیل می‌باشند. یکی دیگر از علل عدم تشکیل میوه کامل در بنه را می‌توان به وجود فاصله زمانی در رسیدن گل‌های نر و ماده نسبت داد. در این گونه گل‌های نر زودتر از گل‌های ماده می‌رسند (اغلب ۱۰ تا ۱۵ روز)، بنابراین گل‌های ماده کمتری لقاح یافته و بارور می‌شوند [۱۲ و ۱۴]. کاهش یا افزایش نسبت بذر رسیده به بذر کل، حدود ۵۰ درصد با سن درخت ارتباط دارد و مابقی آن به مسائل فنولوژی و فیزیولوژی ارتباط دارد [۹].

از سوی دیگر، به دلیل دوپایه بودن، درخت بنه از هتروزیگوسیتی بالایی برای تولید میوه برخوردار می‌باشد و به طور طبیعی، نهال‌های حاصل از بذرها مشابهت زیادی ندارند. جوانه‌زنی بذرها نیز اختلاف معنی‌داری داشته و دامنه آن بین ۹۵-۱۸ درصد در نوسان است [۵۴].

مشکل دیگر تکثیر جنسی بنه، وجود خفتگی در بذر بنه است که دلیل اصلی آن وجود درون‌بر سخت و خفتگی درونی است. ترکیبات بازدارنده موجود در بذرها بنه خصوصیات شبيه آبسزیک اسید دارند [۵].

۲-۱-۹-۲- مشکلات تکثیر غیر جنسی

تکثیر پسته در میان درختان میوه اغلب با مشکل مواجه است و ریشه‌دار کردن قلمه‌های پسته در مقایسه با درختان میوه‌ای دیگر مشکل‌تر است. بنابراین درختان پسته به وسیله پیوند ازدیاد می‌یابند زیرا ریشه‌زایی قلمه‌ها خیلی پایین است و همچنین بین پایه‌ها و قلمه‌ها ناسازگاری وجود دارد [۵۸ و ۶۴].

تکثیر سنتی پسته پر هزینه و زمان‌بر است به طوری که تکثیر آن به وسیله پیوند جوانه‌ها از کلون‌های ممتاز به پایه‌های هتروزیگوس و یا جوانه‌زنی مستقیم صورت گرفته است اما درصد تکثیر بسیار پایین است [۳۸].

دشواری‌های بالای تکثیر و انتقال، استفاده از گونه‌های وحشی پسته را محدود ساخته است. این محدودیت‌ها بیشتر به خواب بذر و تعداد خیلی کم ریشه‌های فرعی نسبت داده می‌شود. به علاوه انتقال گیاهچه‌ها اغلب موجب آسیب دیدن ریشه‌ها می‌شود [۵۶].

۲-۲- کشت بافت گیاهی^۱

۲-۲-۱- تعریف کشت بافت گیاهی

اصطلاح کشت بافت گیاهی به طور عمومی به کشت گیاهان، بذور و اجزای گیاهی به صورت این ویترو در محیط‌های غذایی خاص و تحت شرایط استریل اطلاق می‌شود و عبارت است از کشت یاخته، بافت، پروتوپلاست و اندام‌های گیاهی در شرایط استریل و در محیط غذایی مصنوعی که به صورت جامد یا مایع تهیه می‌شود [۱۷ و ۲۱].

انگیزه کوشش‌های اولیه برای باززایی درختان در محیط کشت، مربوط به اتفاقاتی است که در خارج از محیط کشت رخ داده است. در قرن هیجدهم، دو هامل دومون سو^۲ مشاهده کرد که درختان در محل زخم تولید پینه^۳ کردند. در اوایل قرن نوزدهم نیز شوان فرضیه توتی پتانسی را ارائه داد [۴].

^۱Plant Tissue Culture

^۲Duhamel du monceau

^۳Callus

اساس تکنیک کشت بافت، تئوری توتی پتانسی و مبتنی بر دو مرحله‌ی تمایزدایی^۱ و تمایزیابی مجدد^۲ می‌باشد و در آن، ریزنمونه پس از قرار گرفتن در محیط کشت^۳ مناسب و تحت شرایط بهینه، ماهیت مریستمی پیدا کرده و تولید یک توده‌ی سلولی تمایز نیافته به نام کالوس می‌کند و سپس مجدداً به اندام مورد نظر تمایز می‌یابد [۱۷].

از نظر تاریخی، شروع کشت بافت گیاهی به اواخر قرن نوزدهم و اوایل قرن بیستم باز می‌گردد و تلاش برای استقرار کشت بافت‌های گیاهی تا سال‌های ۱۹۳۹ و ۱۹۴۰ ادامه داشت تا اینکه برخی محققان موفق به باززایی^۴ گیاه کامل از یک سلول شدند. در هر حال کشت بافت تا دهه ۵۰ خیلی موفق نبود و عامل اصلی آن، عدم کشف هورمون‌های گیاهی بود. در واقع باززایی گیاهان کامل از یک سلول و یا اندام گیاهی از قابلیت‌های کشت بافت است که با کشف هورمون‌های گیاهی امکان پذیر گردید [۱۷].

کشف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی راه را برای کشت بافت بسیاری از گیاهان در شرایط آزمایشگاهی باز نمود. اصولاً تنظیم کننده‌ها به موادی اطلاق می‌شوند که در یک قسمت از گیاه ساخته شده و به سایر قسمت‌ها منتقل می‌گردند و اثرات فیزیولوژیکی محسوسی در بافت‌های جوان بر جای می‌گذارند. معمولاً ۵ گروه از تنظیم کننده‌های طبیعی و مصنوعی در کشت بافت استفاده می‌شوند که شامل اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها، جیبرلین‌ها، اتیلن و آبسزیزیک اسید می‌باشند [۱۷].

سیتوکینین‌ها نقش مهمی در القای ساقه‌دهی و انگیزش شاخه‌های نابجا ایفا می‌کنند و به دو گروه: (۱) نوع آدنین^۵ و (۲) نوع فنیل اوره^۶ تقسیم می‌شوند. نوع آدنین شامل: بنزیل آدنین^۷ (BA) یا بنزیل آمینوپورین^۸ (BAP)، کینتین^۹ (Kin) و زآتین^{۱۰} (Zea) می‌باشد و نوع فنیل اوره نیز شامل تیدیازورون^{۱۱} (TDZ) و دی فنیل اوره^{۱۲} است [۳۷].

¹ Dedifferentiation

² Redifferentiation

³ Culture Medium

⁴ Regeneration

⁵ Adenine-type

⁶ Phenylurea-type

⁷ Benzyladenin

⁸ 6-Benzylaminopurine

⁹ Kinetin

¹⁰ Zeatin

¹¹ Thidiazuron

¹² Diphenylurea

اکسین‌ها موجب تقسیم سلول، تورم بافت‌ها و تشکیل ریشه‌های نابجا می‌شوند و شامل ترکیباتی مانند ۲ و ۴-دی‌کلروفنوکسی استیک اسید^۱ (2,4-D)، نفتالین استیک اسید^۲ (NAA)، ایندول استیک اسید^۳ (IAA)، ایندول بوتیریک اسید^۴ (IBA) و غیره می‌باشند [۲۱].

جیرلین‌ها معمولاً در باززایی گیاهان استفاده می‌شوند و به‌طور کلی موجب طویل شدن میانگره‌ها و رشد مریستم‌ها و جوانه‌ها در شرایط آزمایشگاهی می‌شوند. از این نوع تنظیم‌کننده می‌توان اسید جیرلیک^۵ (GA3) را نام برد [۲۱].

۲-۲-۲- انواع روش‌های کشت بافت

کشت بافت گیاهی که انواع روش‌های کشت گیاهان در شرایط استریل را تحت پوشش قرار می‌دهد، بایستی در موارد خاص استفاده شود و تقسیم آن به انواع مختلف زیر امکان‌پذیر است:

- **کشت بذری**^۶: کشت بذور در شرایط این‌ویترو به منظور تولید گیاهچه یا گیاه کامل.

- **کشت جنین**^۷: جداسازی و پرورش یک جنین بالغ یا نابالغ به منظور به دست آوردن گیاهی با توانایی ادامه حیات.

- **کشت اندام**^۸: کشت اندام‌های جدا شده گیاهی، که به انواع مختلفی از جمله کشت مریستم و نوک ساقه، کشت ریشه و کشت دانه‌گرده قابل تقسیم است.

- **کشت کالوس**^۹: کشت یک بافت تمایز یافته از ریزنمونه و اجازه دادن به آن برای تمایززدایی در شرایط این‌ویترو و تشکیل بافت کالوس.

- **کشت سلول**^{۱۰}: کشت سلول‌های جدا شده و یا توده‌های خیلی کوچک سلولی که در محیط مایع پراکنده می‌باشند.

¹2,4-dichlorophenoxyacetic acid

²Naphtaleneacetic acid

³Indole-3-acetic acid

⁴ Indole-3-butyric acid

⁵Gibberellic acid

⁶Seed Culture

⁷Embryo Culture

⁸Organ Culture

⁹Callus Culture

¹⁰ Cell Culture

- کشت پروتوپلاست^۱: کشت پروتوپلاست‌های گیاهی، یعنی کشت سلول‌های فاقد دیواره [۲۱].

۲-۳- ریزازدیادی^۲

۲-۳-۱- تعریف ریزازدیادی

فنون کشت‌بافت به عنوان روش‌های جایگزین برای تکثیر رویشی گیاهان، به مرور زمان از عمومیت بیشتری برخوردار می‌گردند. کشت‌بافت گیاهی، به عبارتی تکثیر گیاهان به روش‌های غیر جنسی است و هدف اصلی آن اصلاح گیاهان می‌باشد. موفقیت در بسیاری از تکنیک‌های گزینش در شرایط این‌ویترو و اعمال فنون دست‌ورزی ژنتیکی در گیاهان عالی، به باززایی موفق گیاهان در محیط این‌ویترو بستگی دارد [۲۱].

تکثیر کلونی یا به عبارتی تولید گیاهان مشابه با گیاه والد با کمک روش‌های متنوعی از کشت‌بافت که به ریزازدیادی معروف است انجام می‌شود. امروزه ریزازدیادی یکی از مهم‌ترین بخش‌های زیست فناوری گیاهی است که جنبه کاربردی و تجاری پیدا کرده است [۱۷].

از روش‌های کشت آزمایشگاهی می‌توان برای تکثیر وسیع گونه‌هایی که به طور معمول به روش‌های رویشی تکثیر می‌شوند کمک گرفت. از دهه ۱۹۴۰ تکثیر کلونال گیاهان با استفاده از روش‌های این‌ویترو امکان‌پذیر شد و اصولاً در شرایط آزمایشی و آزمایشگاه‌های کوچک انجام می‌شد. در اوایل دهه ۱۹۷۰ تکثیر کلونال به روش این‌ویترو و در سطح وسیع برای تکثیر برخی گیاهان (اصولاً گیاهان زینتی) عملی شد [۱۷].

تکثیر کلون در شرایط آزمایشگاهی را ریزازدیادی می‌نامند. واژه کلون اولین بار توسط وبر در مورد گیاهان زراعی که به صورت رویشی تکثیر شده بودند، استفاده شد. کلمه کلون منشأ یونانی دارد و به معنی پاجوش، قلمه و اجزای نظیر آنها که به عنوان واحدهایی برای تکثیر (پروپاگول^۳) از گیاه جدا می‌شوند، می‌باشد. بنابراین تکثیر کلون عبارت است از ازدیاد افرادی با محتوای ژنتیکی کاملاً مشابه با استفاده از تولید مثل غیر جنسی و کلون، جمعیتی از گیاهان است که از یک گیاه منفرد به وسیله تولید مثل غیر جنسی به وجود آمده است [۲۱].

¹Protoplast Culture

²Micropropagation

³Propagule