T.M.U.
دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده علوم کشاورزی
گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی

پایان نامه دوره کارشناسی ارشد

بررسی پرآوری نوساقه و ریشه‌زایی گیاه گل لیسیانتوس (*Eustoma grandiflurom*) در شرایط درون شیشه‌ای

نگارنده:
روح‌اله جعفری

استاد راهنما:
دکتر احمد معینی

استاد مشاور:
دکتر قاسم کریم‌زاده

تیر ۱۳۹۰

چکیده:

گیاه گل لیسیانتوس (*Eustoma grandiflorum*)، گیاه گلداری از خانواده Gentianaceae است که به سرعت در بین ده گل شاخه بریده برتر دنیا مطرح شده است. این گیاه یکساله متعلق به نواحی معتدل، و متحمل به گرما می باشد. لیسیانتوس به صورت شاخه بریده و گلدانی پرورش داده می شود. در حال حاضر، سریع‌ترین روش تکثیر گیاه گل لیسیانتوس می‌تواند روش ریزازدیادی باشد که پتانسیل تولید فراوان گیاهان سالم و عاری از بیماری را دارد. با توجه به ارزش بسیار زیاد این گیاه، تحقیق حاضر، جهت ارائه پروتکل مناسبی برای کشت درون شیشه‌ای آن، از ریز نمونه های گره‌ای انجام شده است. برای این منظور در هر مرحله از ریزازدیادی (- استقرار، تکثیر و پرآوری نوساقه و ریشه‌زایی)، تیمارهای مختلف محیط کشت، هورمونی و همچنین ترکیبات تیماری مختلف ضدعفونی و نیز تیمارهای مربوط به محیط کشت مورد بررسی قرار گرفتند. بهترین پروتکل ضدعفونی، تیمار ریزنمونه‌ها با ۲٪ هیپوکلریت سدیم به مدت ۱۰ دقیقه تعیین شد. همچنین نتایج نشان داد که بیشترین و بهترین کیفیت نوساقه در مرحله پرآوری نوساقه توسط کشت در محیط پایه MS حاوی، $mg\ l^{-1}$ ۰/۵ از BAP و $mg\ l^{-1}$ ۰/۲ از GA_3 و سپس یک زیرکشت در محیط پایه MS حاوی $mg\ l^{-1}$ ۰/۴ از IBA و $mg\ l^{-1}$ ۰/۵ از GA_3 بدست آمده است. همچنین محیط کشت MS ۱/۲ با ترکیب هورمونی $mg\ l^{-1}$ ۱ IAA بدون زغال فعال، به عنوان محیط کشت بهینه برای ریشه‌زایی درون شیشه‌ای این گیاه تعیین شد.

واژه‌های کلیدی: لیسیانتوس(*Eustoma grandiflurom*)، ریزازدیادی درون شیشه‌ای، پرآوری نوساقه، ریشه‌زایی.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه **۱**

فصل دوم: بررسی منابع **۴**

۲- ۱- تاریخچه و خاستگاه: ۵

۲- ۲- سطح زیرکشت و اهمیت اقتصادی ۵

۲- ۳-گیاهشناسی: ۵

۲- ۴- مواد غذایی: ۶

۲- ۵- انتخاب رقم: ۷

۲- ۶- ارقام مهم لیسیانتوس: ۷

۲- ۶- ۱- ماریاچی (Mariachi) ۷

۲- ۶- ۲- رقم کاتالینا (Catalina) ۷

۲ - ۶- ۳- رقم بالبوا (Balboa) ۷

۲- ۷- آفات و بیماریها ۸

۲- ۷-۱- بیماری‌ها: ۸

۲- ۷-۲- آفات: ۸

۲- ۸- کشت بذر: ۸

۲- ۹- کشت بافت: ۹

۲- ۱۰- تاریخچه کشت درون شیشه‌ای ۹

۲- ۱۱- کشت بافت لیسیانتوس: ۱۰

۲- ۱۲- ۱- عوامل موثردرکشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۱۰

۲- ۱۳-۱- ضدعفونی ۱۹

۲- ۱۳-۲- نوساقه‌زایی: ۲۰

۲- ۱۳-۳- ریشه‌زایی: ۲۱

۲- ۱۳-۴- سازگاری: ۲۲

فصل سوم: مواد و روشها **۲۳**

۳- ۱- موادگیاهی:.....۲۴

۳- ۲ -آبیاری: ۲۴

۳- ۳ -تغذیه: ۲۴

۳- ۴- دما و رطوبت:.....۲۴

۳- ۵ – کلیات تهیه محیط کشت:.....۲۵

۳- ۵- ۱- عناصر پایه محیط کشت وتهیه محلول‌های مادری مورد استفاده ۲۶

۳- ۶- تنظیم کننده‌های رشدگیاهی ۲۷

۳- ۶- ۱- تهیه محلول مادری هورمونها ۲۷

۳- ۷- آماده ساختن محیط کشت ۲۷

۳- ۸- آزمایش‌ها: ۲۸

۳- ۸- ۱- به منظور بررسی بهینه‌سازی محیط کشت پرآوری نوساقه پنج آزمایش به شرح ذیل انجام شد.....۲۸

فصل چهارم: نتایج و بحث **۴۲**

۴-۱آزمایش اول: بررسی میزان آلودگی ریزنمونه گره‌ای درگیاه گل لیسیانتوس ۴۳

۴-۲- آزمایش دوم: بررسی مقدماتی تاثیرتیمارهای هورمونی برروی کشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۴۴

۴-۲-۱- تاثیر هورمون BAP برصفات مورد مطالعه ۴۴

۴-۲-۲- تاثیر هورمون Kin برصفات مورد مطالعه ۴۷

۴-۳-۱- آزمایش سوم : بهینه سازی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای درگیاه گل لیسیانتوس ۴۸

۴-۳-۲- زیرکشت اول (A):.....۵۳

۴-۳-۳- زیرکشت دوم (B):.....۵۵

۴ -۴- آزمایشات چهارم تا دوازدهم: بررسی اثرات نوع ظرف، pH، غلظت نمک‌ها و شکر، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۵۷

۴- ۴- ۱- آزمایش چهارم: بررسی اثر نوع ظرف، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۵۷

۴- ۴- ۲- آزمایش پنجم: بررسی اثر مقدارpH، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس.....۵۹

۴- ۴- ۳- آزمایش ششم: بررسی اثر غلظت‌های مختلف NH_4NO_3، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۶۱

۴- ۴- ۴- آزمایش هفتم: بررسی اثر غلظت‌های مختلف KNO_3، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس.....۶۲

۴- ۴ - ۱- صفت متوسط تعداد نوساقه درهر یزنمونه ۶۲
۴- ۴- ۵- آزمایش هشتم: بررسی اثر غلظت‌های مختلف $CaCl_2$، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۶۴
۴- ۴- ۶- آزمایش نهم: بررسی اثرغلظت‌های مختلف $MgSO_4$، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۶۶
۴- ۴- ۷- آزمایش دهم: بررسی اثر غلظت‌های مختلف KH_2PO_4، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۶۷
۴- ۴- ۸- آزمایش یازدهم: بررسی اثرغلظت‌های مختلف ساکارز، بر نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۶۸
۴- ۴- ۹- آزمایش دوازدهم: تاثیر غلظت‌های مختلف BAP و GA_3، بر روی بهترین تیمارحاصله از آزمایش‌های اثرات نوع ظرف، pH، غلظت‌های نمک و شکر در گیاه گل لیسیانتوس ۷۱
۴- ۵- آزمایش سیزدهم تا پانزدهم: بررسی ریشه‌زایی درون شیشه‌ای نوساقه‌های بدست آمده ازکشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۷۶
۴- ۵- ۱- آزمایش سیزدهم: بررسی اثرهورمون IAA و زغال فعال برروی ریشه‌زایی درون شیشه‌ای نوساقه‌ها ۷۶
۴- ۵- ۲- آزمایش چهاردهم: بررسی اثر هورمون IBA و زغال فعال برریشه‌زایی درون شیشه‌ای نوساقه‌ها ۸۰
۴- ۵- ۳- آزمایش پانزدهم: بررسی اثر هورمون NAA برروی ریشه‌زایی درون شیشه‌ای نوساقه‌ها درگیاه گل لیسیانتوس ۸۴
۴-۶- نتیجه‌گیری کلی:..... ۸۸
۴-۷- پیشنهاد ۹۰
۴-۸- ضمیمه: ۹۱
منابع **۹۸**

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول (۳-۱) ترکیب محیط کشت MS و محلولهای مادری آن ۲۲۵

جدول ۳-۲: غلظت وایتکس (هیپوکلریت سدیم) و مدت زمان (دقیقه)، درضدعفونی ریزنمونه‌های گره‌ای گیاه گل لیسیانتوس..... ۲۸

جدول۳-۲: تیمارهای مورد مطالعه دربررسی مقدماتی تاثیر تیمارهای هورمونی روی کشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس.... ۲۹

جدول۳-۳: تیمارهای مورد مطالعه در بهینه‌سازی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای، گیاه گل لیسیانتوس ۳۰

جدول۳-۴: تیمارهای مورد مطالعه در زیرکشت اول با هدف بررسی اثرات آنها روی متوسط تعداد نوساقه و متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه، درگیاه گل لیسیانتوس ۳۱

جدول۳-۵: تیمارهای مورد مطالعه درزیرکشت دوم با هدف بررسی اثرات آنها روی متوسط ارتفاع نوساقه و ریشه‌زایی ریزنمونه‌های اولیه، در گیاه گل لیسیانتوس ۳۲

جدول۳- ۶: تیمارهای مورد مطالعه درآزمایش بررسی اثر نوع ظرف بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس ۳۳

جدول۳- ۷: تیمارهای مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر pH محیط کشت بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس ۳۳

جدول۳- ۸: تیمارهای مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر NH_4NO_3 بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس..... ۳۴

جدول۳- ۹: تیمارهای مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر KNO_3 بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس ۳۴

جدول۳- ۱۰: تیمارهای مورد مطالعه در آزمایش بررسی اثر $CaCl_2$ بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس..... ۳۵

جدول۳- ۱۱: تیمارهای مورد مطالعه درآزمایش بررسی اثر $MgSO_4$ بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس..... ۳۵

جدول۳- ۱۲: تیمارهای مورد مطالعه درآزمایش بررسی اثر KH_2PO_4 بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس ۳۶

جدول۳- ۱۳: تیمارهای مورد مطالعه درآزمایش بررسی اثر شکر بر روی پرآوری گیاه گل لیسیانتوس ۳۶

جدول۳-۱۴: تیمارهای هورمونی مورد مطالعه بر روی بهترین تیمارحاصله از بررسی اثرات، نوع ظرف، pH ، غلظت‌های نمک و شکر، درگیاه گل لیسیانتوس..... ۳۷

جدول۳-۱۵: تیمارهای مورد مطالعه در بررسی اثرتلفیقی هورمون IAA (A) وزغال فعال(D) بر ریشه‌زایی نوساقه‌های درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس..... ۳۹

جدول۳-۱۶: تیمارهای مورد مطالعه دربررسی اثرتلفیقی هورمون IBA (A) وزغال فعال(B) بر ریشه‌زایی نوساقه‌های درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس..... ۳۹

جدول۳-۱۷: تیمارهای مورد مطالعه در بررسی اثر تلفیقی هورمون NAA (A) و زغال فعال (B) بر ریشه‌زایی نوساقه‌های درون شیشه-ای گیاه گل لیسیانتوس ۴۰

جدول۴-۱: تجزیه واریانس بررسی تیمارهای هورمونی بر روی صفات مورد مطالعه درکشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیا نتوس..... ۴۴

جدول۴-۲: تجزیه واریانس، بررسی مقدماتی تاثیر تیمارهای هورمونی بر روی صفات مورد مطالعه درکشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس ۴۷

جدول۴-۳: تجزیه واریانس بررسی اثر دو هورمون BAP (A) و GA_3 (B) دربهینه سازی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای درگیاه گل لیسیانتوس ۴۹

جدول۴-۴: تجزیه واریانس زیرکشت اول، بررسی اثر دو هورمون BAP (A) و GA_3 (B) در بهینه سازی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای درگیاه گل لیسیانتوس ۵۳

جدول۴-۵: تجزیه واریانس زیرکشت دوم، بررسی اثر دو هورمون IBA (B) و GA_3 (A) در بهینه‌سازی نوساقه‌زایی درون شیشه‌ای درگیاه گل لیسیانتوس ۵۶

جدول۴- ۶: تجزیه واریانس اثر ظرف برصفات مورد مطالعه درکشت گیاه گل لیسیانتوس ۵۸

جدول۴- ۷: تجزیه واریانس اثر pH، برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس..... ۶۰

جدول۴- ۸: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف NH_4NO_3، برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۶۱

جدول۴- ۹: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف KNO_3، برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۶۳

جدول۴- ۱۰: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف $CaCl_2$، برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۶۵

جدول۴- ۱۱: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف $MgSO_4$، برصفات مورد مطالعه گیاه گل لیسیانتوس..... ۶۶

جدول۴- ۱۲: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف KH_2PO_4، بر صفات مورد مطالعه گیاه گل لیسانتوس ۶۸

جدول۴- ۱۳:تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف ساکارز، برصفات مورد مطالعه گیاه گل لیسیانتوس ۶۹

جدول۴- ۱۵: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف از هورمون IAA (A) و زغال فعال(D) برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۷۶

جدول۴- ۱۶: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف از هورمون IBA (B) و زغال فعال(D) برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۸۱

جدول۴- ۱۷: تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف از هورمون NAA (C) و زغال فعال (D) برصفات مورد مطالعه درگیاه گل لیسیانتوس ۸۵

جدول۴-۱۸: آزمایش اول: مقایسه میانگین اثر متقابل هورمون BAP (A) × GA_3 (B) بر صفت متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه درگیاه گل لیسانتوس ۹۱

جدول۴- ۱۹: مقایسه میانگین اثر متقابل BAP (A) × GA_3 (B) بر صفات مورد مطالعه در زیرکشت اول ۹۲

جدول۴- ۲۰: مقایسه میانگین، اثر متقابل GA_3 (A) × IBA (B) بر صفات مورد مطالعه در زیرکشت دوم ۹۴

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۴-۱: واکنش ریزنمونه گره‌ای به تیمارهای مختلف ضدعفونی گیاه گل لیسیانتوس ۴۳

شکل ۴-۲:مقایسه میانگین اثرهورمون BAP بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۴۴

شکل ۴-۳:مقایسه میانگین اثر هورمون BAP بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۴۵

شکل ۴-۵: مقایسه میانگین اثر هورمون کینتین بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۴۸

شکل ۴-۶: مقایسه میانگین اثر ساده هورمون BAP برمتوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۵۰

شکل ۴-۸:مقایسه میانگین اثر ساده هورمون BAP بر متوسط تعداد برگ در هرنوساقه ۵۲

شکل ۴-۹:مقایسه میانگین اثر ساده هورمون GA_3 بر متوسط تعداد برگ در هر نوساقه ۵۲

شکل ۴-۱۰:مقایسه میانگین اثر ظرف بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۵۸

شکل ۴-۱۱:مقایسه میانگین اثر ظرف بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۵۹

شکل ۴- ۱۲: مقایسه میانگین اثر pH بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۶۰

شکل ۴- ۱۳:مقایسه میانگین اثر NH_4NO_3 بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۶۱

شکل ۴- ۱۴: مقایسه میانگین اثر NH_4NO_3 بر متوسط تعداد برگ در هر نوساقه ۶۲

شکل ۴- ۱۵: مقایسه میانگین اثر KNO_3 برمتوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۶۳

شکل ۴- ۱۶: مقایسه میانگین اثر KNO_3 برمتوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۶۴

شکل ۴- ۱۷: مقایسه میانگین اثر $CaCl_2$ بر متوسط تعداد برگ در هر نوساقه ۶۵

شکل ۴- ۱۸: مقایسه میانگین اثر $MgSO_4$ بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۶۷

شکل ۴- ۱۹:مقایسه میانگین اثر KH_2PO_4 بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۶۸

شکل ۴- ۲۰: مقایسه میانگین اثر ساکارز بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۶۹

شکل ۴- ۲۱: مقایسه میانگین اثر ساکارز برمتوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۷۰

شکل ۴- ۲۲: مقایسه میانگین اثر ساکارز بر متوسط تعداد برگ در هر نوساقه ۷۱

شکل ۴-۲۳: مقایسه میانگین تاثیر غلظت BAP بر متوسط متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۷۳

شکل ۴-۲۴: مقایسه میانگین تاثیر غلظت‌های GA_3 بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۷۴

شکل ۴- ۲۵: مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف BAP (A) و GA_3 (B) بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه .۷۴
شکل ۴- ۲۶: مقایسه میانگین اثرات متقابل غلظت‌های مختلف BAP (A) و GA_3 (B) بر متوسط تعداد برگ در هر نوساقه ۷۵
شکل ۴- ۲۷: بررسی اثر ساده غلظت IAA بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه.....۷۷
شکل ۴- ۲۸: بررسی اثرات متقابل غلظت‌های IAA × زغال فعال بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه ۷۸
شکل ۴- ۲۹: بررسی اثرات متقابل غلظت‌های IAA و زغال فعال بر متوسط تعداد ریشه در هر ریزنمونه ۷۹
شکل ۴- ۳۰: بررسی اثرات متقابل IAA × زغال فعال بر متوسط طول ریشه در هر ریزنمونه.....۸۰
شکل ۴- ۳۱:بررسی اثر ساده غلظت IBA (B) بر متوسط تعداد نوساقه در هر ریزنمونه.....۸۱
شکل ۴- ۳۲: بررسی اثرات متقابل IBA × زغال فعال برمتوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۸۲
شکل ۴- ۳۳:بررسی اثرات متقابل IBA × زغال فعال بر متوسط ارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۸۳
شکل ۴- ۳۴: بررسی اثرات متقابل IBA × زغال فعال بر طول ریشه ۸۳
شکل ۴- ۳۶: بررسی اثر ساده غلظت‌های NAA برارتفاع نوساقه در هر ریزنمونه ۸۵
شکل ۴- ۳۷: بررسی اثرات متقابل NAA × زغال فعال بر تعداد ریشه در هر ریزنمونه.....۸۶
شکل ۴- ۳۸: بررسی اثرات متقابل NAA × زغال فعال برصفت متوسط طول ریشه در هر ریزنمونه ۸۷
شکل۴- ۳۹: نوساقه‌های بدست آمده از تیمار شاهد (الف) و تیمار حاوی ترکیب هورمونی (ب) $mg\ l^{-1}$ ۰/۵ از BAP و $mg\ l^{-1}$ ۰/۲ از GA3 .....۹۶
شکل ۴-۴۰: نوساقه‌های بدست آمده از محیط حاوی $mg\ l^{-1}$ ۰/۲ از GA3 (الف) نوساقه ریشه‌دار شده در محیط حاوی $mg\ l^{-1}$ ۰/۵ از IAA (ب).....۹۶
شکل۴- ۴۱: یک هفته (الف) و ۴ هفته (ب) بعد از انتقال نوساقه‌های ریشه‌دار به محیط حاوی پیت و پرلیت.....۹۷
شکل۴- ۴۲: خارج کردن پوشش نایلونی بعد از ۱۰ هفته از انتقال نوساقه‌های ریشه‌دار شده به محیط حاوی پیت و پرلیت ۹۷

فصل اول:

مقدمه

گیاه لیسیانتوس (*Eustoma grandiflorum*) گیاه گلداری است از خانواده Gentianaceae که به سرعت در بین ده گل شاخه بریده برتر دنیا مطرح شده است. این گیاه یکساله متعلق به نواحی معتدل و متحمل به گرما می‌باشد و بومی آمریکای جنوبی و مکزیک است (Roh and Lawson, 1988). گل لیسیانتوس به صورت شاخه بریده و گلدانی پرورش داده می‌شود و امروزه از اهمیت به خصوصی در بازارهای جهانی برخوردار است. این گیاه، گلهایی به رنگهای متنوع شامل آبی، سفید، ارغوانی، صورتی، بنفش دارد (Ichimura and Korenaga, 1998).

گیاه لیسیانتوس حدود ۶۰ سال پیش درژاپن وآمریکای شمالی یافت شد. تاکنون ۱۵ واریته از این گیاه شناسایی شده است و امروزه محققین ژاپنی سه رقم از این گیاه را به دلیل بازار پسندی بیشتر و جذابیت بالا به رنگ‌های آبی، سفید و صورتی را در سطح تجاری تولید می‌کنند. این گیاه در تابستان به گل می‌رود و از حدود ۳۰ سال پیش کار برای ایجاد تنوع در آن شروع شد (Kunitake *et al*, 1995). ارتفاع این گیاه ۵۰ تا ۷۰cm است که هر بوته از این گیاه دارای ۲۰ تا ۴۰ گل می‌باشد. گل ها در تابستان باز شده و ارتفاع عمر شاخه بریده و گلدانی به ترتیب دو هفته وکمتر از پنج هفته می‌باشد (Roh and Lawson, 1984). این گیاه به علت تنوع رنگ گلها و تعداد گل (۲۰ تا۴۰ گل در گیاه) و همچنین عملکرد این گیاه در هزار متر مربع (۲۰۰ تا۲۵۰ هزار شاخه گل) و با تولید ۱۲۹ میلیون ساقه در سال ۲۰۰۱ و تولید بیش از ۱۲۲ میلیون ساقه در سال۲۰۰۲، رتبه اول گل شاخه بریده در ژاپن و جزء ده گل شاخه بریده برتر اروپا را به خود اختصاص داده است. به همین دلیل تولید این گیاه تاثیر بسیار قابل ملاحظه‌ای در بازارهای گل اروپا گذاشته است.

تکثیر این گیاه از طریق بذر و پاجوش می‌باشد، اما متاسفانه تنها بذرهای هیبرید در این گیاه، خصوصیات ژنتیکی یکسانی شامل کیفیت گل، تعداد گل، ارتفاع بوته و مدت زمان گلدهی را نشان می‌دهند، و از قیمت بالایی برخوردارند. بذرهای گیاه خصوصیات مشابهی را نشان نمی‌دهند. همچنین، تعداد پاجوش‌هایی که از پایه مادری تولید می‌شوند کم است و نیز از رشد خیلی کمی برخوردار هستند. و تقریباً از پاجوش استفاده نمی‌شود به همین دلیل با توجه به مشکلات تکثیر کلاسیک این گیاه ضرورت دارد، که تکثیر درون شیشه‌ای این گیاه مدنظر قرار گیرد (Evans and Bravo, 1995).

در حال حاضر ایران در بین ۴۵ کشور تولید کننده گل و گیاهان زینتی، در رتبه ۱۶ قرار دارد و سطح زیر کشت ایران نسبت به سطح زیر کشت جهانی از ۱/۳٪ فراتر نیست. از لحاظ میانگین ارزش تولید، ژاپن، هلند، آمریکا و ایتالیا به ترتیب رتبه های اول تا چهارم را به خود اختصاص می‌دهند. ایران علیرغم استعداد بالقوه، از نظر سطح زیر کشت گل و گیاه زینتی در جهان جایگاه مناسبی ندارد. متوسط صادرات سالیانه ۱۲ سال اخیر ایران نشان می‌دهد که صادرات گل و گیاه به یک ششصدم کل صادرات غیر نفتی و یک چهار هزارم کل صادرات می‌رسد. در این فاصله بخش کشاورزی ۲۱٪ از کل تولید ناخالص داخلی را بر عهده داشته است اما سهم گل و گیاه حدود یک پانصدم بوده است. قابل ذکر است که صنعت گل و گیاه بعد از انقلاب اسلامی رشد چشمگیری داشته است و بر اساس آخرین آمار، مساحت گلخانه‌های پرورش گل و گیاه ظرف ۶ سال از ۵۳۰ هکتار به ۱۳۰۰ هکتار در سال رسیده است (رئیس دانا، ۱۳۸۰).

ایران کشوری در حال توسعه است و نیاز به صادرت غیر نفتی در آن روز به روز افزایش می‌یابد. با توجه به شرایط متنوع و مناسب اقلیمی کشورمان جهت پرورش گل و گیاه باید بهره برداری مطلوب از استعدادهای موجود صورت گیرد. هم اکنون بذور و گیاهچه‌های گلهای بریدنی مهم جهان نظیر داودی، رز، لیسیانتوس، آلسترومریا، آنتوریوم، میخک و بعضی گل‌های دیگر از کشور هلند وارد ایران می‌شود که ضمن خروج ارز و وابستگی مستمر، این مساله یکی از بزرگترین موانع پیشرفت صنعت گلکاری در ایران محسوب می شود. به منظور توسعه‌ی تولید گیاهان زینتی و تولید ارقام جدید بازار پسند می‌توان از فنون پیشرفته کشت بافت استفاده کرد تا گام موثری در جهت افزایش تولید گیاهان زینتی و صادرات آن برداشته شود. با توجه به اینکه تولید کنندگان صنعت گل و گیاه زینتی در کشور تلاش برای افزایش سطح زیر کشت این گیاه دارند، ولی متاسفانه برای تهیه بذر و نشاء این گل با مشکل بسیاری مواجه هستند. همچنین با توجه به بررسی‌های انجام شده در ایران مشخص شد که برای تکثیر و تولید این گیاه از طریق کشت درون شیشه‌ای اقداماتی صورت نگرفته است هدف از این تحقیق، رسیدن به بهترین محیط کشت و روشی مناسب به منظور تولید گیاهچه‌های لیسیانتوس از ریزنمونه‌های گره‌ای گیاه گل لیسانتوس است. با توجه به این که این گیاه دگرگشن بوده، لذا گیاهان حاصل از بذور، از کیفیت گل و طول دوره‌ی گلدهی یکسانی برخوردار نیستند، و پژوهش حاضر در زمینه ریزازدیادی این گیاه گام موثری در جهت خود کفایی، برای تامین مواد گیاهی سالم، به منظور توسعه کشت این گیاه در ایران خواهد بود.

فصل دوم:

بررسی منابع

۲- ۱- تاریخچه و خاستگاه:

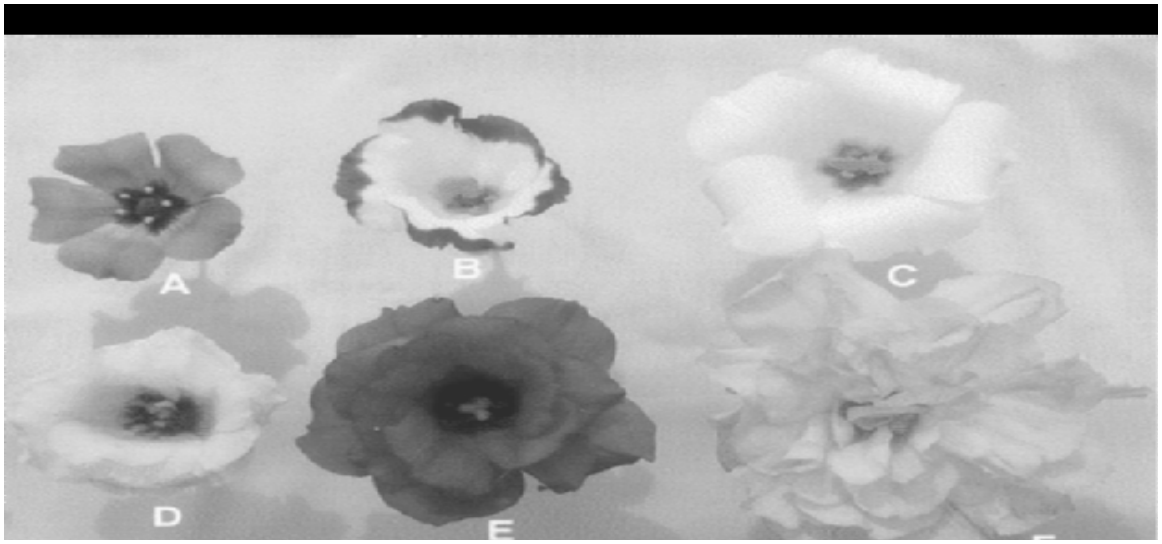
گیاه لیسیانتوس حدود ۶۰سال پیش در ژاپن وآمریکای شمالی یافت شد. این گیاه در آمریکای شمالی به صورت گل وحشی بوده، و بومی دشت‌های نبراسکا، کلرادو و تگزاس می‌باشد. در حال حاضر نه تنها از آن به عنوان گل گلدانی، و گل شاخه بریده در دنیا استفاده می شود، بلکه شهرت این گل به جایی رسیده که در هلند در ردیف یکی از ده گل برتر شناخته شده است (Roh and Lawson, 1988). نام علمی این گل Eustoma grandiflorum می‌باشد که به اسامی عمومی Prairie gentian یا Texas blue bell نیز نامیده می‌شود. لیسیانتوس به رنگهای متنوعی از قبیل آبی متمایل به بنفش سیر، گل بهی، صورتی، سفید و انواع گل دو رنگ وجود دارد و ساقه‌های گل دهنده می‌توانند بصورت تک گل یا دو گل باشند (Ichimura and Korenaga, 1998). لیسیانتوس گیاهی متعلق به نواحی معتدل، یک ساله و متحمل به گرما می‌باشد. این گیاه برای تولید کنندگان در مناطق گرمسیری در ماه های آذر تا اسفند و زیر پوشش تولید می‌شود. تاکنون ۱۵ واریته از این گیاه شناسایی شده است، این گیاه در تابستان به گل می‌رود و از حدود ۳۰ سال پیش، برنامه هایی برای ایجاد تنوع در این گیاه شروع شده است (Kunitake *et al*, 1995).

۲- ۲- سطح زیر کشت و اهمیت اقتصادی

این گیاه به علت تنوع رنگ گلها و تعداد گل (۲۰ تا۴۰ گل در گیاه) و عملکرد در هزار متر مربع (۲۰۰ تا ۲۵۰ هزار شاخه گل) و با تولید ۱۰۷ میلیون ساقه در سال ۱۹۹۸، ۱۲۱ میلیون ساقه در سال ۱۹۹۹، ۱۲۲ میلیون ساقه در سال ۲۰۰۱ و تولید بیش از ۱۲۹ میلیون ساقه در سال۲۰۰۲، رتبه اول گل شاخه بریده در ژاپن را به خود اختصاص داده و جزء ده گل شاخه بریده برتر اروپا را به خود بوده است (Halevy and Kofranek, 1984). همچنین فروش این گل در بازارهای آمریکا در سال ۲۰۰۱، به بیش از ۹/۳ میلیون دلار، رسیده که در مقایسه با سال۲۰۰۰، به مقدار ۵۰٪ افزایش داشته است (U.S.Dept. of Agriculture, 2002). در ایران، طبق آمار بدست آمده از دفتر گل و گیاه وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۸۷، تقریباً ۱۴ میلیون ساقه از این گل در کشور تولید شده است و از جمله استان‌های تولید کننده‌ی این گل، می‌توان اصفهان، تهران، خراسان رضوی، مرکزی، و استان یزد را نام برد. امکان تولید زمستانه لیسیانتوس در گلخانه وجود دارد، اما در زمستان تولید در واحد سطح کمتر می‌باشد. بهترین بهره برداری، برای یک کشت، و به عنوان گیاه یکساله معمولاً پرورش داده می‌شود.

۲- ۳-گیاه شناسی:

لیسیانتوس دارای گلهای استکانی است که به دو صورت ساده و مضاعف وجود دارند. گلهای ساده دارای یک ردیف گلبرگ و گل‌های مضاعف دارای دو ردیف گلبرگ هستند که در هر ردیف ۵ گلبرگ وجود دارد. گلبرگها به صورت ساده و در بعضی موارد دارای لبه‌های چین‌دار می‌باشند. ارتفاع گلها حدود ۷/۶ سانتی متر (۳اینچ) می‌باشد. برگها به صورت متقابل و ساده بوده و حاشیه برگ در بسیاری از موارد به صورت صاف و در بعضی موارد به صورت چین دار می‌باشد. همچنین شکل برگ به صورت تخم مرغی با آوندهای موازی می‌باشد (Li, *et al* 2002).



شکل ۲-۱: لیسیانتوس‌های بومی باگلهای کم پر: A مسطح، B لوله‌ای، C زنگوله‌ای ؛ انواع اصلاح شده با گلهای پرپر: D ،F ،E

این گیاه برای گلدهی به یک دوره ۶ تا ۹ ماهه زمان نیاز دارد و اگر شرایط مناسب برای گلدهی گل فراهم نباشد به گل نمی-نشیند و به همان حالت رزت باقی می‌ماند. برای گلدهی نیاز به نور حدود ۲۰ تا ۳۰ هزار لوکس و ۱۲ تا ۱۳ ساعت نور دارد. گیاهی است که دمای کمتر از ۷ درجه سانتی گراد را تحمل نمی کند (Katz, 1997; Newman, 2000). برای کشت، بذرهای گیاه را در یک خاک نسبتاً سبک با pH ۵ تا ۵/۵ کشت می‌کنند. بذرها فوق‌العاده ریز می‌باشند، بنابراین در آبیاری گیاه باید مراقبت نمود تا از جابجایی و شست و شوی بذرها جلوگیری شود. تیمارهای جوانه‌زنی مثل تیمار جیبرلین یا سرمادهی به مدت ۲ تا ۳ هفته در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد از روشهایی هستند که می‌توان از آنها برای بالا بردن سرعت جوانه زنی بذور استفاده کرد. گیاهچه ۴ برگی با سن حدود ۲ ماه و نیم تا ۴ ماه بر حسب رقم، بعد از جوانه‌زنی، شروع به گل دادن می کنند (Ichimura andKorenaga, 1998). مهمترین دوره‌ی رشد گیاه زمانی است که از حالت رزت خارج می‌شود و ساقه را تشکیل می‌دهد. این مرحله معمولاً در سن ۵ تا ۷ هفته‌ای اتفاق می‌افتد که گیاه برگهای متقابل (۵ تا۷ جفت برگ) دارد و مرحله رزت تمام شده است (Gill, *et al* 2000).

۲- ۴- مواد غذایی:

بهترین pH برای لیسیانتوس بین ۶/۳ - ۷ می‌باشد و سطوح بالای کلسیم همراه با فسفر کافی برای آن بسیار مطلوب می‌باشد، لذا توصیه می‌شود قبل از فصل رشد یک آزمایش خاک برای تعیین pH و میزان عناصر غذایی جهت توصیه مقادیر بهینه‌ی کود انجام شود. کوددهی را یک هفته پس از کشت نشا آغاز می‌کنند. در لیسیانتوس، از ۱۰۰- ۱۵۰ قسمت در میلیون (ppm) ازت و یک نوع کود کامل استفاده می‌کنند. ازت مورد استفاده عمدتاً باید از نوع نیترات باشد، لازم است مقدار پتاسیم را حدالامکان در حد برابر با ازت نگه داشتند و هنگام آغاز تشکیل غنچه‌های گل، مقدار کودهای حاوی ازت کاهش داده شود (Reid, 2002).

۲- ۵- انتخاب رقم:

در انتخاب رقم لیسیانتوس به دو نوع ساقه تک گل و ساقه دوگل تقسیم می‌شود. بازار گل شاخه ای اروپا و ژاپن عمدتاً لیسیانتوس تک گل را ترجیح می‌دهند، در حالی که بازار ایالات متحده‌ی امریکا به ساقه دوگل تمایل نشان می‌دهند (Anonymous, 2003). بعضی از اهداف اصلاح کنندگان این گل عبارتند از: بدست آوردن رنگها و فرمهای جدید این گل، تولید گیاهانی با نشاهای قوی‌تر، کیفیت مرغوب ساقه (بلندی و قرینگی اجزای ساقه)، زمان برداشت، یکسان بودن گلها و مقاومت در برابر بیماریها (Hill, 2002).

۲- ۶- ارقام مهم لیسیانتوس:

۲- ۶- ۱- ماریاچی (Mariachi)

این رقم، دارای گلهای پرپر با گلبرگ‌های تا حدودی برگشته است، که در هنگام شکوفایی ظاهر جذابی به آن می‌بخشند. رشد و گلدهی خوب آن در تابستان، این رقم را به عنوان بهترین و مناسب‌ترین رقم برای تولید تابستانه معرفی نموده است. در آزمایشات انجام شده در مریلند، بطور متوسط ۴ ساقه گل دهنده در هر گیاه به ارتفاع ۴۸ سانتی متر و هر کدام با ۲۰ گل تولید می‌کنند. در این تحقیق نیز از این رقم استفاده شده است.

۲- ۶- ۲- رقم کاتالینا (Catalina)

این رقم برای روزهای بلند و گرم تابستان اصلاح شده و رنگ‌های گل‌ها سرخابی و زرد هستند.

۲ - ۶- ۳- رقم بالبوا (Balboa)

این رقم به خوبی در مریلند تولید شده و پیش بینی می‌شود با استقبال خوبی روبرو شود. این رقم برای تولید گل در هوای گرم و روز بلند اصلاح شده و در بهار تا تابستان گل می‌دهد. زمان برداشت برای این رقم بین ۱۱ تا ۱۴ هفته پس از کشت نشاء تغییر می‌کند. میانگین ارتفاع ساقه در این رقم ۵۰ سانتی‌متر با ۳۱ غنچه گل در هر ساقه و ۴ ساقه در هر بوته می‌باشد، رنگ‌های موجود این رقم شامل آبی، سرخابی، و لبه آبی می‌باشد (Anonymous, 2003).

۲- ۷- آفات و بیماری ها

۲- ۷-۱- بیماری ها:

لیسیانتوس در اولین مرحله‌ی تولید معمولاً از مشکلات ناشی از بیماری ها رنج می‌برد. بوته‌های بزرگ آن در خاک‌های دارای زهکش خوب وآبیاری مناسب، کشت شده و به خوبی رشد می‌کنند. گیاهچه‌های تازه روئیده، سیستم ریشه‌ای کند رشدی دارند، که به پوسیدگی‌ها بسیار حساس می‌باشند. ویروس‌ها نیز می توانند مخرب بوده و احتمال آلودگی ویروسی هنگامی بیشتر است که فضای استفاده برای کشت به صورت مشترک با محصولات دیگر استفاده شود (Gill, *et al* 2000). از جمله بیماری‌های خطرناک برای این گیاه عبارتند از: مرگ گیاهچه[1]، پوسیدگی‌های ریشه، بیماری‌های ویروسی، از جمله TMV[2]، CMV[3]، BYMV[4]، INSV[5]، قارچ بوتریتیس (Hill, 2002).

۲- ۷-۲- آفات:

مگس سفید و تریپس از آفات مهم این گیاه می‌باشند (Fox, 1998).

۲- ۸- کشت بذر:

تکثیر این گیاه از طریق بذر و قلمه می‌باشد، اما متاسفانه تنها بذرهای هیبرید در این گیاه، خصوصیات ژنتیکی یکسانی شامل کیفیت گل، تعداد گل، ارتفاع بوته و مدت زمان گلدهی را نشان می‌دهند، و از قیمت بالایی برخوردار هستند. بذرهایی که در روی خود گیاه تولید شوند، خصوصیات مشابهی را نشان نمی‌دهند. همچنین، قلمه‌هایی که از پایه مادری تولید می‌شوند، دارای رشد خیلی کم و تعداد کمی بوته هستند (Ichimura and Korenaga, 1998). بذور لیسیانتوس بعد از ۲ تا۳هفته، گیاهچه‌های ۴ برگی تولید می‌کنند و بعد از ۲ ماه و نیم تا ۴ ماه،بر حسب رقم، بعد از جوانه زنی شروع به گل دادن می‌کنند. بذرهایی که یک سال از برداشت آنها گذشته باشد، اگر ۴ هفته در شرایط گرم و مرطوب با دمای ۱۸ تا ۲۴ درجه سانتی‌گراد و سپس ۴ هفته در شرایط گرم و مرطوب با دمای ۷ درجه سانتی‌گراد قرار گیرند، بعد از ۸ تا ۲۴ هفته جوانه خواهند زد. بذرهای تازه اگر در شرایط آزمایشگاهی و دمای ۱۸ درجه سانتی‌گراد کشت شوند، بعد از ۱۰ تا ۱۴ روز جوانه می زنند (Roh and Lawson, 1984).

1-Damping off
2-Tobacco Mosic virus
3-Cucumber mosaic virus
4-Broad bean wilt virus
5-Impatiens necrotic spot taspovirus

۲- ۹- کشت بافت:

کشت بافت اصطلاحی است که برای نشان دادن کشت درون شیشه ای[1]بخش های مختلف گیاه مانند پروتوپلاست، سلول، بافت و اندام گیاهی در محیط غذایی و شرایط ضدعفونی شده به کار می‌رود (معینی، کهریزی ۱۳۸۲).

در کشت درون شیشه‌ای با تکیه بر خاصیت توتی پتنسی[2] موجود در یک اندام، بافت سلول و یا حتی قسمتی از یک سلول، گیاهی کامل و منطبق بر هدف مورد نظر قابل تولید است (پیری، ۱۳۸۰). این فن در ازدیاد نباتات، اصلاح نباتات، تولید فرآورده های بیوشیمیایی، بیماری شناسی گیاهی، نگهداری و انبار کردن بافت‌های گیاهی و پژوهش‌های علمی کاربرد دارد. در سالهای اخیر استفاده از کشت‌های درون شیشه‌ای به منظور باززایی و تولید تجاری گیاهان، جایگزین شیوه‌های سنتی ازدیاد گونه‌های گیاهی شده است (خوشخوی، ۱۳۷۸).

گیاهچه‌های حاصل از کشت درون شیشه‌ای در مقایسه با تولید آنها از روش‌های دیگر از مزایای ویژه‌ای به شرح ذیل برخوردار هستند: ۱) در شروع کار گیاهان کمی مورد نیاز است و این موضوع پرورش دهنده را قادر می‌سازد تا گیاهانی با بهترین کیفیت را انتخاب کنند. ۲) سرعت تکثیر خیلی بالاست و در نتیجه زمان لازم برای ازدیاد ارقام جدید کاهش می‌یابد و علاوه بر این در سالهای بعد هم گیاهانی با همان کیفیت می توان تولید کرد.۳) یک گیاه درون شیشه‌ای، عاری از آلودگی است. گاهی حذف منابع آلودگی از محصول هرگز نمی تواند با مواد حاصل از سایر روشهای ازدیاد حاصل شود ۴) کنترل تولید که از طریق کشت درون شیشه‌ای حاصل می شود، خطر تولید ناکافی مواد گیاهی را به حداقل می‌رساند (Linde, *et al* 1992).

با این حال مواردی چون ۱) قیمت بالای تولید ۲) ضعف ریشه‌زایی در گیاهان تولید شده ۳) درصد کم بقای گیاهان در مرحله سازگاری ۴) هزینه‌های بالای آزمایشگاه و ۵) آلودگی گیاهان درون‌شیشه‌ای، استفاده از این روش را محدود می کند.

۲- ۱۰- تاریخچه کشت درون شیشه ای

شاید اولین قدم در زمینه کشت درون شیشه‌ای گیاهی در سال ۱۷۵۶ میلادی توسط هنری لوئیس دهامل[3] هنگامی که وی شاهد تشکیل کالوس در حین مطالعه اولین مواد التیام دهنده زخم های گیاهی بود، برداشته شد (باقری، ۱۳۸۱ و تقسیمی، ۱۳۷۸). در سال ۱۸۳۸ میلادی شوان واشلیدن[2] تئوری توتی پتنسی[3] را ارائه نمودند. بر اساس این تئوری، هر سلول مستقل بوده و قادر به تولید یک گیاه کامل است. در واقع تئوری آنها پایه و اساس کشت درون‌شیشه‌ای گیاه بود (باقری، ۱۳۷۶). افتخار استقرار مبانی زیست شناختی کشت درون‌شیشه‌ای به متخصص آلمانی، هابرلاند[4]داده می‌شود که نخستین کسی بود که در سال ۱۹۰۲ امکان انجام این کار را اعلام کرد (خوشخوی، ۱۳۷۸).

1 -in vitro
2-Totipotency
3- Henri-Louis DUHAMEL du Monceauas
4- Haberlandt

در بین سال‌های ۱۹۰۷-۱۹۰۹ هاریون[۱]، باروز و کارل[۲]، موفق به کشت درون‌شیشه‌ای بافت‌های حیوانی و انسانی شدند. در سال ۱۹۳۹ نوبکرت[۳]،گوسترت[۴] و وایت[۵] برای اولین بار موفق به تولید گیاه حاصل از کشت درون‌شیشه‌ای شدند (سوهانی، ۱۳۷۹). نقاط عطف زیادی در کشت بافت طی ۵۰ سال گذشته بدست آمده و از دهه ۱۹۷۰، ریزازدیادی به یک روش عملی و تجاری برای تکثیر رویشی گیاهان تبدیل شده است (Seelye, *et al* 2003).

۲- ۱۱- کشت بافت لیسیانتوس:

ازدیاد لیسیانتوس به طور معمول از طریق بذر صورت می‌گیرد، اما فراهم آوردن شرایط جوانه زنی بذور، سخت می‌باشد. این گیاه دگرگشن و خود سازگار می‌باشد و بذرهای تولیدی گیاه قدرت جوانه‌زنی خوبی ندارند. لذا با توجه به محدودیت‌های روشهای ازدیاد سنتی، کشت درون شیشه‌ای برای تکثیر و تولید انبوه این گیاه مطلوب است. از مزایای کشت درون شیشه‌ای ازدیاد مستمر گیاهان در هر مقطع زمانی از سال و بدون توجه به فصل است (Roh and Lawson, 1988).

در تحقیقی در خصوص ریز ازدیادی گیاه گل لیسیانتوس، با استفاده از ریزنمونه‌های گره‌ای، جوانه‌های جانبی گیاه، برگ و میانگره‌ها گزارش شده است که ریز نمونه گره‌ای، ریزنمونه مناسبی برای ازدیاد در این گیاه می‌باشد (Halevy and Kofranek, 1984).

۲- ۱۲- ۱- عوامل موثر در کشت درون شیشه‌ای گیاه گل لیسیانتوس

۲- ۱۲- ۱- ۱- تنظیم کننده های رشد گیاهی[۶]

تنظیم کننده‌های رشد ترکیبات عالی هستند که به صورت طبیعی در گیاهان عالی ساخته می شوند و روی رشد و نمو تاثیر می-گذارند و معمولاً در نقاط مختلف گیاه فعال هستند و مسئول توزیع ترکیباتی هستند که گیاه بیوسنتز می‌کند. امروزه هورمون‌های مصنوعی نیز ساخته شده‌اند که همان خصوصیت هورمون‌های طبیعی را دارا هستند. تمایز و اندام‌زایی بافت‌ها فقط در پاسخ به یک یا چند گروه از هورمون‌ها شامل اکسین‌ها، سیتوکنین‌ها، جیبرلین‌ها و اسیدآبسزیک صورت می‌گیرد و نسبت اکسین‌ها به سیتوکنین ها در محیط کشت بافت می‌تواند روند ریشه‌زایی و نوساقه‌زایی را تحت تاثیر قرار دهند (Razdan, 2003).

1 - Hariuon
2 - Baruz and Karl
3 - Nobecourt
4 - Gausteret
5 - White
۶-Plant growth regulators

۲- ۱۲- ۱- ۱- ۱- اکسین ها:

اولین بار سالکوکسی[1] (۱۸۸۵)ایندول-۳-استیک اسید را در محیط‌های کشت مخمر کشف کرد که بعداً این ماده در بافت‌های گیاهی نیز کشف شد. امروزه به عنوان مهمترین نوع اکسین در برخی فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان بکار گرفته می‌شود (فتحی و اسماعیل‌پور، ۱۳۷۹). گروه اکسین‌های طبیعی مانند، ایندول استیک اسید (IAA)[2] و اکسین‌های شیمیایی مانند، ایندول بوتریک اسید (IBA)[3]، نفتالین استیک اسید (NAA)[4]، ۲و۴ دیکلرو فنوکسی استیک اسید (2,4-D)[5] هستند (معینی، کهریزی ۱۳۸۲). اکسین‌های مصنوعی نسبتاً فعال‌تر از اکسین‌های طبیعی هستند. مزیت دیگر اکسین‌های شیمیایی این است که پایدار بوده و به وسیله آنزیم‌های موجود در بافت‌های گیاهی تجزیه نمی‌شوند. بر این اساس هورمون IAA به طور معمول با غلظت ۵۰-۱ میلی‌گرم در لیتر و اکسین‌های شیمیایی با غلظت ۱۰-۰/۰۰۱ میلی‌گرم در لیتر بکار برده می شوند (فتحی، ۱۳۷۹).

اکسین‌ها باعث رشد طولی سلول، تورم بافت، تقسیم سلولی، تشکیل کالوس، تشکیل ریشه‌های نابجا، ممانعت از تشکیل نوساقه‌های نابجا، جانبی و غالباً جنین‌زایی می‌شوند (پیری، ۱۳۸۰و وصال، ۱۳۸۲). اکسین‌ها در غلظت‌های پایین (۱میلی گرم در لیتر) سبب تمایز ریشه و در غلظت بالا (۱۰ میلی گرم در لیتر) کالوس‌دهی را تحریک می‌کنند (نوری، ۱۳۷۱).

در مطالعه‌ای که بر روی ریزازدیادی گیاه گل لیسیانتوس انجام شد، اثر هورمون اکسین (NAA) با غلظت ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر به همراه هورمون سیتوکینین BA با غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر، بر روی میانگره‌های گیاه گل لیسیانتوس بررسی شد. نتایج نشان داد که غلظت ۰/۲ میلی‌گرم درلیتر NAA به تنهایی هیچ تاثیری در تشکیل نوساقه‌زایی نداشته است و محیط‌هایی که هورمون NAA با غلظت ۰/۲ mg/l در ترکیب با ۳ mg/l BAP بود، تشکیل نوساقه با موفقیت انجام شد ولی نوساقه‌های تولید شده (۱۰ نوساقه) از کالوس‌های تشکیل شده در قسمت انتهایی میانگره، بدست آمدند که شیشه‌ای و غیر نرمال بودند. نتایج همچنین نشان دادند که ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت حاوی هورمون سیتوکنین به تنهایی، بعد از ۱۰ روز به سمت قهوه‌ای شدن پیش رفته و از بین رفتند (Peter, *et al* 1987).

در پژوهش دیگری جهت تولید کالوس از ریزنمونه‌های برگی لیسیانتوس با استفاده از محیط حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و۳ میلی‌گرم درلیتر BA نشان داده شد که بعد از ۲۱ روز از کشت برگها و نگهداری آنها در تاریکی، کالوس‌ها در محیط‌های حاوی ۳ میلی‌گرم BA تشکیل شدند (Peter, *et al* 1987). در تحقیقی دیگری که بر روی کشت نوساقه‌های گیاه لیسیانتوس به منظور تولید ریشه انجام دادند، نوساقه‌های تولید شده بر روی محیط کشت حاوی هورمون BAP (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر)، به محیط کشت MS حاوی غلظت‌های مختلفی از هورمون‌های IBA و IAA منتقل شدند و نتایج نشان داد که افزایش غلظت هورمون‌های IBA و IAA (۵ mg/l تا ۳)، تاثیر مثبتی بر روی ریشه‌زایی داشته ولی درصد شیشه‌ای شدن نیز افزایش پیدا کرده است (Kee and Eun, 2000).

1- Salkowski
2 - Indole-3-acetic acid
3 - Indol butyric acid
4 - NapHthalen acetic acid
5 - 2,4-DichloropHenoxy acetic acid