

بررسی تکثیر کاکتوس زینتی - دارویی (*Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae)) با استفاده از تکنیک کشت بافت

نرگس کریمی^۱، روحانگیز نادری^{۲*}، مرتضی ابراهیمی^۳، محمدرضا مفید^۴

- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه آزاد اسلامی (واحد کرج)، کرج
- استادیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه پرديس تهران، کرج
- دکترا، عضو هیأت علمی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه مرکزی کشور، اصفهان
- استادیار، عضو هیأت علمی، گروه بیوشیمی، دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان
- *آدرس مکاتبه: اصفهان، جاده گلداشت، بلوار پژوهش، پژوهشکده بیوتکنولوژی مرکزی کشور
- کد پستی: ۸۱۷۴۶ - ۷۱۱۵۶، تلفن: ۰۳۳۱ (۲۲۳۴۵۸۷) - ۰۳۳۱ (۲۲۳۵۸۵۸)، نماپر: ۰۳۳۱

پست الکترونیک: rnaderi2002@yahoo.com

تاریخ تصویب: ۸۸/۶/۲۲

تاریخ دریافت: ۸۷/۲/۸

چکیده

مقدمه: عصاره و آلالکالوئید تولید شده از کاکتوس سرئوس پرویانوس دارای ترکیبات موثره فراوانی است و در صنایع داروسازی و کشاورزی کاربرد زیادی دارد. تکثیر این گیاه با روش‌های سنتی (بذر، قلمه و پا جوش) به کندی صورت می‌گیرد و تولید آن در سطح انبوه فقط از طریق کشت بافت امکان‌پذیر است.

هدف: این تحقیق به منظور بررسی امکان ریز ازدیادی، شناخت جنبه‌های مختلف افزایش این گیاه و تعیین بهترین محیط کشت و ترکیب هورمونی در شرایط درون شیشه‌ای انجام شد.

روش بررسی: این آزمایش با طرح پایه کامل تصادفی در ۳ تکرار انجام شد و هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه پس از ضدغوفونی سطحی روی محیط کشت پایه MS همراه با ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر فیتوآگار و ۲۵ تیمار هورمونی با نوع و غلاظت مختلف تنظیم کننده‌های رشد (NAA، BAP، Kinetin، GA₃، IBA، 2,4-D، TDZ) با pH=۵/۸ کشت شدند. پس از گذشت ۴۵ روز، اثرات محیط کشت بر بازیابی از آرئول، تولید پینه ترد و ریشه‌زایی در محیط‌های مختلف ثبت و ارزیابی شد.

نتایج: در این تحقیق بهترین ترکیب هورمونی برای تولید پینه ترد $0.05 \text{ mg/l NAA} + 0.07 \text{ mg/l TDZ}$ بود. برای تولید گیاهچه ۲/۵ تا ۳ ماه پس از کشت مشاهده شد و ۸ محیط کشت مناسب برای تولید گیاهچه (تولید گیاه از آرئول) انتخاب شد. بین دو واریته Cereus peruvianus var tortuosus و Cereus peruvianus var monstrosus از نظر بازیابی گیاه از آرئول تفاوت معنی‌دار وجود داشت.

نتیجه‌گیری: با توجه به اهمیت عصاره و آلالکالوئید سرئوس پرویانوس و کندی تکثیر آن به روش‌های سنتی تکثیر آن از طریق بازیابی از آرئول علاوه بر اقتصادی بودن، از نظر زمانی نیز بسیار کوتاه‌تر است.

گل واژگان: سرئوس پرویانوس، واریته تورتوسوس و مونستروسوس، پینه، ریزازدیادی



کامل در اتفاق که رشد قرار داده شد. پس از گذشت یک ماه به مدت سه ماه به شرایط شدت نوری ۳۰ لوکس با فتوپریود ۱۶ ساعت، منتقل شد. هر ۳ هفته یکبار ریزنمونه‌ها جهت استفاده از مواد غذایی بیشتر و تازه‌تر در محیط کشت جدید واکشت شدند.^{۴۵} روز پس از کشت ریزنمونه‌ها، ویژگی‌های تولید پینه‌ترد و فشرده و از حدود ماه سوم به بعد تولید درصد ریشه‌زایی و باززایی از آرئول اندازه‌گیری شد. این آزمایش به صورت طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار به اجرا درآمد. داده‌های حاصل با استفاده از نرم‌افزار SAS تجزیه و مقایسه میانگین با کمک آزمون دانکن و در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج

اثر محیط‌های کشت مختلف روی تولید پینه ترد و شکننده

با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول شماره ۱)، بین محیط‌های کشت در تولید گیاهچه و پینه ترد و شکننده تفاوت معنی‌دار در سطح ۱ و ۵ درصد وجود داشت، از طرفی بین صفت تولید پینه ترد در دو واریته این تفاوت معنی‌دار بود، به طوری‌که واریته هفت پر فقط در محیط کشت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر NAA توانست پینه ترد تولید نماید. از ۲۵ محیط کشت، ۱۶ محیط مربوط به واریته شاخه نباتی تولید پینه ترد و شکننده نمودند که بهترین محیط از نظر میزان تولید این نوع پینه محیط شماره ۱۶ با میزان هورمون ۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و پایین‌ترین آن مربوط به محیط‌های شماره ۳، ۵، ۶ و ... (جدول شماره ۲) بود. محیط‌های کشت شماره ۴، ۱۳، ۱۱، ۱۰، ۷، ۴ که در آنها غلظت‌های متفاوتی از BAP و NAA به کار رفته بود، تفاوت معنی‌دار نداشتند (جدول شماره ۲).

تنظيم‌کننده‌های رشد، روی میزان پرآوری در آن است. با این وجود، بر اساس منابع در دسترس ویکا^۱ و همکاران (۲۰۰۶) در تکثیر مامیلاریا با استفاده از ریزنمونه گلچه در محیط ۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید پینه و سپس با واکشت^۲ آنها در همین محیط از آنها شاخه گرفتند [۱۲]. در حالی که دی‌الیورا^۳ (۱۹۹۵) اعتقاد داشت بدون وجود ریزنمونه حاصل از کشت بذر نمی‌توان باززایی نمود [۴]. به دلیل وجود گزارش‌های گوناگون و حتی گاهی متناقض آن هم روی کاکتوس‌های مختلف، این آزمایش در پژوهشکده بیوتکنولوژی اصفهان با هدف بررسی تعدادی از محیط‌های کشت روی واکنش پینه‌زایی، رشد و باززایی ریزنمونه‌های مختلف و در پایان انتخاب محیط‌های برتر انجام شد.

مواد و روش‌ها

ریزنمونه‌های موردنیاز از دو واریته شاخه نباتی با نام علمی *Cereus peruvianus* var *monstrosus* و هفت پر با نام علمی *Cereus peruvianus* var *tortuosus* از گیاهان ۲ ساله سرئوس پروینوس تهیه شد، ساقه‌های گیاه ابتدا یک دقیقه با الکل ۹۶ درصد شستشو داده و بعد از شستشو با آب مقطر استریل، به مدت ۲۰ دقیقه با محلول ۱ درصد هیپوکلریت سدیم به همراه یک قطره تویین ۲۰ ضدعفونی سطحی شدند و سپس بعد از چند مرتبه شستشو با آب مقطر استریل در زیرهود^۴ از آنها ریزنمونه تهیه شد. ریزنمونه‌ها به طور تصادفی، از قسمت‌های مختلف گیاه انتخاب شد. ریزنمونه‌های تهیه شده روی محیط کشت پایه MS همراه با ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر فیتوآگار و غلظت‌های مختلفی از تنظیم‌کننده‌های رشد با pH = ۵/۸ کشت شدند. در این آزمون با هدف تولید گیاهچه (از طریق باززایی مستقیم و یا با استفاده از پینه)، تعداد ۲۵ تیمار هورمونی با نوع و غلظت مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد (جدول شماره ۲) در ۳ تکرار که هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه بود (و هر کدام یک آرئول داشت) مورد استفاده قرار گرفت. کشت‌ها در دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و تاریکی

¹ Wyka
³ De Oliveira

² Subculture
⁴ Laminar



جدول شماره ۱- تجزیه واریانس متغیر اثر محیط کشت بر تولید گیاهچه و پینه ترد و شکننده در

(c. *peruvianus* var *monstrosus*)

منابع متغیر	درجه آزادی	تولید گیاهچه	تولید پینه ترد و شکننده	میانگین مربعات
محیط کشت	۲۴	۰/۱۸۱۳۷۴۳۲**	۰/۰۷۷۱*	۰/۰۷۷۱*
تکرار	۲	۰/۰۳۲۶۳۷۶۵ ^{ns}	۰/۰۲۷۴**	۰/۰۲۷۴**
خطا	۴۸	۰/۰۱۴۳۸	۰/۰۲۰۱۲	۰/۰۲۰۱۲
CV		۱۰/۵۱	۱۰/۷۸	

نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال

۵ درصد، ns نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار

جدول شماره ۲- مقایسه میانگین اثر ترکیبات هورمونی بر درصد تولید گیاهچه (اندامزایی) و پینه ترد و شکننده درواریته‌های سرئوس پرویانوس (در هر ستون اعدادی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.)

درصد تولید گیاهچه (اندامزایی) و پینه ترد و شکننده				هورمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد	نمره
(c. <i>peruvianus</i> var <i>monstrosus</i>)	(c. <i>peruvianus</i> var <i>tortuosus</i>)	واریته شاخه نباتی	واریته هفت پر		
۲۲/۳ ^{ab}	۴ ^{a b}	پینه ترد و شکننده	گیاهچه	MS + ۱mg/l 2,4-D + ۱mg/l Kinetin + ۱mg/l NAA + ۱mg/l IAA	۱۵
۲۶/۶ ^{bc}	۵۳/۳ ^a	.	.	MS + ۱mg/l 2,4-D + ۱mg/l Kinetin + ۱mg/l NAA + ۱mg/l IAA	۱۵
.	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA + ۱mg/l BAP ۱	۴
۲۶/۶ ^{bc}	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l IBA ۱ + ۰/۰۵ mg/l BAP ۱	۵
.	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA ۱ + ۰/۰۳ mg/l TDZ ۱	۶
۲۶/۶ ^{bc}	۶/۶ ^{dc}	.	.	MS + ۰/۱ mg/NAA ۱ + ۱ mg/BAP ۱	۷
.	^d	.	.	MS + ۰/۲ mg/NAA ۱ + ۰/۰۵ mg/l Kinetin	۸
.	۷/۶ ^{dc}	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/NAA ۱ + ۰/۰۵ mg/l TDZ ۱	۹
۲۶/۶ ^{bc}	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA + ۲ mg/BAP ۱	۱۰
۲۶/۶ ^{bc}	.	.	.	MS + ۰/۱ mg/l NAA + ۱ mg/BAP ۱	۱۱
.	۲۶/۶ ^b	.	.	MS + ۰/۱ mg/l NAA + ۰/۱ mg/BAP ۱	۱۲
۲۶/۶ ^{bc}	^d	.	.	MS + ۰/۱ mg/l NAA + ۲ mg/BAP ۱	۱۳
.	۱۲/۳ ^c	.	.	MS + ۱ mg/l GA3 + ۲ mg/BAP ۱	۱۴
.	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA + ۲ mg/BAP ۱	۱۵
۶۰ ^a	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA + ۰/۰۵ mg/l TDZ ۱	۱۶
۱۳/۳ ^{de}	^d	.	.	MS + ۰/۲ mg/NAA ۱ + ۰/۰۵ mg/l TDZ ۱	۱۷
۲۰ ^{dc}	۲۶/۶ ^b	.	.	MS + ۰/۱ mg/NAA ۱ + ۱ mg/l TDZ ۱	۱۸
.	^d	.	.	MS + ۲ mg/BAP ۱	۱۹
۷/۶ ^{ef}	^d	.	.	MS + ۰/۱ mg/NAA ۱ + ۰/۰۳ mg/l TDZ ۱	۲۰
۱۳/۳ ^{de}	^d	.	.	MS + ۰/۱ mg/NAA ۱ + ۰/۰۵ mg/l TDZ ۱	۲۱
۵۳/۳ ^a	۱۲/۳ ^c	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/NAA ۱ + ۰/۰۵ mg/l TDZ ۱	۲۲
۱۳/۳ ^{de}	^d	.	.	MS + ۰/۱ mg/NAA ۱ + ۰/۰۳ mg/l TDZ ۱	۲۲
.	^d	.	.	MS + ۰/۰۵ mg/IBA ۱ + ۰/۰۵ mg/BAP ۱	۲۴
۵۳/۳ ^a	^d	.	.	MS + ۰/۰۳ mg/l IBA + ۰/۰۵ mg/NAA ۱	۲۵

* حروف کوچک به تفاوت معنی‌دار بین محيط‌های کشت اشاره دارد.



آزمایش‌های فوق محیط‌های کشت حاوی ترکیبات هورمونی کایتین، بنسیل آدنین و تی دیازورون به ترتیب باعث تولید پینه ترد و شکننده بیشتر و تولید گیاه از آرئول گردید. محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D نسبت به سایر محیط‌ها و واریته شاخه نباتی نسبت به واریته هفت پر ریشه‌زایی بیشتری نشان دادند.

بحث

در پینه‌زایی و تولید پینه ترد، مهم‌ترین عوامل تاثیرگذار، ترکیب هورمونی محیط کشت و مقادیر آنها است، در این زمینه ترکیبات اکسین و میزان آن نقش مهمی دارند. به طورکلی میزان توفوردی برای تشکیل پینه ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد ولی در کاکتوس‌ها این میزان بیشتر است و در انواع مختلف آن، این نسبت تغییر می‌کند [۴]. از طرفی سرئوس پروپیانوس دارای تنوع ژنتیکی است و میزان هورمون و مواد غذایی آن با دیگر کاکتوس‌ها متفاوت است [۱۳]. برخی گیاهان به مقادیر بسیار بالایی از هورمون ۲,۴-D برای تشکیل پینه ترد نیاز دارند. مثلاً دنیس توماس و پوتور^۱ (۲۰۰۴) در بازیابی گیاه دارویی کیگلیا پیناتا از خانواده Bignoniaceae در میزان ۶۶ میلی‌گرم در لیتر (۳ میلی‌مول) از ۲,۴-D و بدون ترکیب با هورمون‌های دیگر به پینه ترد، شکننده و زرد رنگ دست یافتد [۱۴]. در این رابطه دی الیورا و همکاران (۱۹۹۵) با کاربرد ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D و ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین، پینه‌های ترد و شکننده بیشتری از سرئوس پروپیانوس تولید کردند [۴]. در این پژوهش همین میزان برای واریته شاخه نباتی مناسب‌تر از بقیه سطوح ۲,۴-D بود اما در ترکیب هورمونی از نظر اهمیت بعد از TDZ و NAA بود. شاید تنوع ژنتیکی سرئوس پروپیانوس و نیاز متفاوت آن به هورمون‌ها در این زمینه بی‌تأثیر نبوده باشد. همچنین چون پینه‌های ترد، احتمال شاخه‌زایی بیشتری دارند [۴] و TDZ در این زمینه قدرت بالایی دارد [۱۵] وجود آن در ترکیب هورمونی می‌تواند در تولید پینه ترد نقش داشته باشد. زمان نیز در تشکیل پینه ترد نقش داشت. در آزمایش ما ۴۵ روز پس از کشت، پینه ترد

اثر محیط کشت بر بازیابی از آرئول در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلفی از ۲,۴-D به همراه کایتین، BA، TDZ (جدول شماره ۱) روی بازیابی ریزنمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج به دست آمده، میزان بازیابی در این محیط‌ها (شماره ۱ و ۲) (جدول شماره ۲) با میزان هورمون ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین به همراه ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D در بالاترین سطح و کمترین بازیابی در محیط‌های شماره ۱۶، ۲۳، ۲۴ و ... (جدول شماره ۳) که حاوی مقادیر مختلف TDZ و NAA بود مشاهده شد. ترکیب هورمونی BAP و NAA بعد از ۲,۴-D و هم رديف با ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D و ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین قرار گرفتند. واریته هفت پر فقط در محیط کشت شماره ۲ (جدول شماره ۲) با میزان هورمون ۶ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D توانست تولید کایتین به همراه ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D گیاه‌چه نماید. بین دو واریته و محیط‌های کشت از نظر تولید گیاه از آرئول تفاوت معنی‌داری وجود داشت. (جدول شماره ۱). در محیط‌های حاوی IBA هیچ گیاه‌چه‌ای تولید نشد.

اثر محیط کشت بر قابلیت ریشه‌زایی برخلاف سایر تحقیقات صورت گرفته بر روی کشت بافت انواع کاکتوس‌ها، که محیط MS به تنها برای ریشه‌زایی به عنوان مناسب‌ترین محیط انتخاب می‌شد [۷، ۹، ۱۰]، در آزمایش ما محیط‌های مختلف، سبب ریشه‌زایی (با طول ریشه بلند) گردید که بهترین آن از نظر ریشه‌زایی ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D و ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین و کمترین آن مربوط به محیط‌های کشت شماره (۳ و ۸) (جدول شماره ۴) با ترکیبات اسید جیبرلیک^۱ (GA3)، NAA و BAP بود. با توجه به نتایج به دست آمده از جدول تجزیه واریانس بین دو واریته و محیط‌ها از نظر تولید ریشه اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد وجود داشت و واریته شاخه نباتی ریشه‌زایی بهتری را نشان داد (جدول شماره ۳، ۴، ۵).

¹ Dennis Thomas. and Puthur

¹ Gibberellic acid



منابع متغیر	درجه آزادی	میانگین مربعات ریشه زایی	
محیط کشت	۹	۰/۷۷۰ **	
واریته	۱	۰/۰۸۷ **	
واریته * محیط کشت	۹	۰/۰۸۳ **	
تکرار	۲	۰/۰۳۴ ns	
خطا	۳۸	۰/۰۱۴۵۳	
CV	۸/۳۹		

* نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد، * نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد، ns نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار

ردیف	هرمون‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد	درصد ریشه‌زایی (دو واریته)	درصد ریشه‌زایی واریته شاخه نباتی	درصد ریشه‌زایی واریته هفت پر
۱	MS + ۴ mg/l 2,4-D	۷۳/۳ a	۵۲/۳ a	۹۳/۳ a
۲	MS + ۴ mg/l 2,4-D+ ۲ mg/l kinetin	۶۳/۳ a	۶۶/۶ a	۷۰ ab
۳	MS + ۱ mg/l GA ₃ +۲mg/l BAP	· e	· d	· e
۴	MS + ۴ mg/l NAA+ ۲ mg/l kinetin	۳۳/۳ bc	۲۶/۶ b	۴ dc
۵	MS + ۰/۰۵ mg/l NAA+۰/۰۵ mg/l TDZ	· e	· d	· e
۶	MS + ۴ mg/l 2,4-D+ ۶ mg/l kinetin	۱۳/۳ c	۱۳/۳ c	۱۳/۳ d
۷	MS + ۰/۱ mg/l NAA+ ۰/۱ mg/l BAP	۱۳/۳ d	۲۶/۶ c	· e
۸	MS + ۰/۱ mg/l NAA+۲ mg/l BAP	· e	· d	· e
۹	MS + ۴ mg/l NAA	۳۹/۹ b	۲۶/۶ c	۵۲/۳ ab
۱۰	MS + ۴ mg/l 2,4-D+ ۴ mg/l kinetin	۲۹/۹ bc	۲۶/۶ c	۳۳/۳ bc

* حروف کوچک به تفاوت معنی‌دار بین محیط‌های کشت اشاره دارد.

واریته	شاخص نباتی (c. peruvianus var monstrosus)	میانگین درصد ریشه‌زایی
۲۳/۹۶ a	(c. peruvianus var monstrosus)	
۹/۹۹ b	(c. peruvianus var tortuosus)	۷ هفت پر

(به دلیل اینکه واریته هفت پر فقط در محیط کشت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر NAA توانست پینه ترد و در محیط کشت با ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین به همراه ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴ D تولید گیاهچه نماید لذا از آوردن جدول‌های مربوط به آن خودداری کردیم)

* حروف کوچک به تفاوت معنی‌دار بین محیط‌های کشت اشاره دارد.



موثر بوده [۲۰] و در ترکیب با NAA نتیجه بهتری در شاخه‌زایی دارد [۱۴] در این آزمایش اهمیت کمتری داشت. شاید یکی از دلایل آن، این باشد که در تولید گیاهچه از طریق آرئول، خواب جوانه باید شکسته شود و برای آن ترکیبی از اکسین و جیبرلین و سیتوکینین موردنیاز است که اکسین و جیبرلین باید غلطت بالاتری داشته باشند. دنیس توماس و پوتور (۲۰۰۴) در بازیابی گیاه کیگلیا پیناتا برای شکسته شدن خواب جوانه غلطت پایینی از ترکیب NAA و BAP را معرفی کردند که این دو هورمون همین تأثیر را بر گیاه ما داشتند. نتایج کار در آزمایش اثر محیط کشت بر قابلیت ریشه‌زایی، با گزارش‌های موجود از نتایج دریو و محمد عظیمی در ریازادیادی کاکتوس هلیوسرئوس [۷] همسویی نشان می‌دهد. آنها با کاربرد مواد دیگری از جمله IBA موفق به ریشه‌زایی شدند. احتمالاً دلایل ریشه‌زایی بهتر واریته شاخه نباتی نسبت به هفت پر در درجه اول ژنتیک، دوم واریته و نهایتاً نوع محیط کشت است.

تشکر و قدردانی

از کلیه همکاران عزیز به خصوص مسؤول محترم پژوهشکده بیوتکنولوژی اصفهان جناب آقای دکتر خیام که امکانات انجام این تحقیق را فراهم نمودند تقدیر و تشکر می‌شود.

مشاهده شد و این نتیجه با گزارش استین هارت (۱۹۶۲) در کشت درون شیشه‌ای کاکتوس تریکوسرئوس نزدیک بود [۱۶]. با توجه به نتایج به دست آمده در این بررسی ملاحظه شد ترکیب هورمونی که بیشترین اثر را در تولید این نوع پینه داشت با کمی افزایش غلطت، تاثیرش کاهش یافت. این گزارش با نتایج سایر پژوهشگران مانند سیلیلا (۲۰۰۲) و دبی شاپ (۱۹۹۵) در کشت بافت آپونتیا متفاوت بود [۵,۹]. نتایج به دست آمده از آزمایش اثر محیط کشت بر بازیابی از آرئول و تولید گیاهچه با گزارش‌های موجود در مورد پینه‌زایی دی‌لیویرا و همکاران (۱۹۹۵) در کشت درون شیشه‌ای سرئوس پرویانوس مطابقت داشت. آنها مقادیر ۱۰ تا ۲۰ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D را مورد استفاده قرار دادند و بهترین محیط پینه‌زایی و شاخه‌زایی را به ترتیب ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر کایتین و ۴ میلی‌گرم در لیتر ۲,۴-D به همراه ۱۵ درصد شیره نارگیل گزارش نمودند. شیره نارگیل معمولاً برای برخی از گونه‌ها استفاده می‌شود، اما بسته به میزان آب موجود در بافت ریزنمونه سبب ترشح مواد فلزی در محیط کشت و نیاز به واکشت بیشتر آنها می‌شود [۴,۱۷]. استین هارت (۱۹۶۲) در بهترین مقدار شیره نارگیل را ۱۰ درصد گزارش کرد [۱۶]. در این آزمایش مشاهده شد که اکثر ریزنمونه‌هایی که از قسمت میانی و مریستمی گیاه سرئوس پرویانوس گرفته شده بودند تولید گیاهچه نمودند که این مسئله احتمالاً به جوانتر بودن سلول‌ها مربوط می‌شود. هر چند که چایری الساندر^۱ و همکاران (۲۰۰۲) در کشت درون شیشه‌ای برخی گیاهان زیستی کمترین میزان پینه و بازیابی را از ریزنمونه‌های مریستم انتهایی مشاهده کردند [۱۸]. چایری الساندر بیان داشت که این مسئله می‌تواند ژنتیکی باشد به طوری که در برخی گیاهان مریستم‌های انتهایی بیشترین و در برخی کمترین پینه‌زایی را دارند. به نظر می‌رسد هر چه قدرت شاخه‌زایی هورمون کمتر باشد در بازیابی از آرئول مهم‌تر است. مثلاً در این رابطه اثر BAP که قدرت شاخه‌زایی کمتری نسبت به TDZ دارد [۱۵] به مراتب قوی‌تر است، TDZ که علاوه بر تنظیم سطح اکسین درونی گیاه [۱۹] در تغییر سطح انرژی سلول و تحریک مواد مغذی

^۱ Chiari Alsander

1. Ghasemi M, Kafi M. Science and Practical Floriculture. first edition, Golbon Publications. Esfahan, Iran. 1384, pp: 284 - 306.
2. Da Silva Assis Machado FAP, Capelasso M, De Oliveira A, Goncalves RAC, Motina Zamuner ML, Aparecida Mangolin C, De Fatima PS, Machado M. Fatty Acids Production from Plants and Callus Cultures of *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae). *J. Plant Sci.* 2006; 1: 368 - 73.
3. De Oliveira AJ, Machado MF. Alkaloid production by callous tissue cultures of *Cereus peruvianus* (cactaceae). *J. Applied Biochem. and Biotechnol. (Appl. Biochem.)*. 2003; 104: 149 - 55.
4. De Oliveira S.A, Pires F, Da Silva Machado M, Jose Prioli A, Mangolin C. A. *In vitro* propagation of *Cereus peruvianus* Mill. (Cactaceae), *J. In vitro Cell Dev. Biol.* 1994: 94 - 8.
5. Cecilia Juarez M and Bernardo Passere C. *In vitro* propagation of *opuntia ellisiana* Griff. and a acclimatization *ellisiana* Griff. and acclimatization to field conditions. *J. Biocell (Mendoza)*. 2002; 26: 1 – 18.
6. Sagastume Tecnoregion H. Propagation in vitro cactus cabeza (*pilocereus maxonii*). *J. Biotecnologia (ICTA)*. 2006, pp: 23 - 4.
7. Drew RA, Azimi M. Micropropagation of Red Pitaya (*Hylocereus undatus*). *J. Acta HortiCulture* 2000, 575.
8. Yasseen M.Y. Micropropagation of pitaya (*Hylocereus undatus* britton et Rose). *J. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2002; 38: 427 – 9.
9. D. Bishop V. Optimization of Tissue culture in *Opuntia*. University of Texas at Austin. 1995, pp: 1 - 51. Thesis.
10. Perez molphe E, Perezreyes martha E, Davilafelgueroa CA, Villalobos Amador E. *In vitro* propagation of three species of columnar cacti from the Sonoran desert. *J. Hortscience*. 2002; 37: 693 - 6.
11. Mata rosas M, Monroy De.L.M.A, Moebius goldammer K, Chavezavila VM. Micropropagation of *Turbinicarpus laui* glasset foster, an endemic and endangered species. *J. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 2001; 37: 400 - 4.
12. Wyka T, Hamerska M, Wróblewska M. Organogenesis of vegetative shoots from *in vitro* cultured flower buds of *Mammillaria albicoma* (Cactaceae). *J. Plant cell, Tissue and Organ Culture*. 2006; 87: 27 – 32.
13. Larkin P, Scowcroft WR. Somaclonal variation a novel source of variability from cell culture for plant improvement. *J. Apple, Genet.* 1981; 60: 197 - 214.
14. Dennis Thomas T, Puthur JT. Thidiazuron induced high frequency shoot organogenesis in callus from *Kigelia pinnata* L. *J. Bot. Bull. Acad. Sin.* 2004; 45: 307 – 13.
15. Barna KS, Wakhlu AK. Effect of thidiazuron on micropropagation of rose. *J. In vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 1995; 31: 44 – 5.
16. Steinhart CE. Tissue culture of a cactus. *J. Science*. 1962; 137: 545 – 6.
17. Dixon RA. Isolation and maintenance of callus and cell suspension culture. *J. Plant cell culture*. 1985, pp: 1 – 20.
18. Chiari A and Bridgen MP. Meristem culture and virus eradication in Alstroemeria. *J. Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 2002; 68: 49 - 55.
19. Murthy BNS, Murch SJ, Saxena PK. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *J. Biomedical and Life*. 1998; 34: 267 – 75.
20. Hutchinson MJ, Saxena PK. Acetylsalicylic acid enhances and synchronizes thidiazuron induced somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium × hortorum* Bailey) tissue culture. *J. Plant Cell Rep.* 1996; 15: 512 – 5.

