مجله علوم کشاورزی ایران
جلد ۳۶، شماره ۴، سال ۱۳۸۴ (۹۰۹-۹۰۳)

ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه دارویی آلوئه (*Aloe barbadensis* Mill)

یوسف حمیداوغلی[1]، جواد فتاحی مقدم[2] و رضا فتوحی قزوینی[3]
۱، ۳، استادیار، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان
۲، محقق مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور (رامسر)
تاریخ پذیرش مقاله ۸۳/۷/۲۲

خلاصه

صبرزرد (*Aloe barbadensis* Mill.) از جمله گیاهان مهم دارویی است که کشت و تکثیر آن در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است. بر این اساس آزمایشی جهت بررسی ریزازدیادی گیاه آلوئه با استفاده از ریزنمونه نوک شاخساره انجام شد. از میان ۲۲ محیط کشت اولیه، ۷ محیط برتر از نظر پرآوری انتخاب و شاخساره‌ها ۳ مرتبه با فاصله یک ماه به منظور عادت‌پذیری روی همان محیط کشت لیکن تازه بازکشت شدند و در بازکشت چهارم، بر اساس طرح کاملاً تصادفی، شاخص‌های ارتفاع شاخساره، تعداد شاخساره و قهوه‌ای شدن محیط ارزیابی شدند. بر اساس نتایج حاصل، حداکثر ارتفاع شاخساره در استفاده از محیط کشت MS دارای IAA (1 mg/l)، kinetin (1 mg/l) و BA (1 mg/l) بدست آمد. همچنین نتایج نشان داد که حداکثر تعداد شاخساره با متوسط ۵/۶۷ عدد به ازای هر ریزنمونه و حداقل میزان قهوه‌ای شدن محیط با استفاده از محیط کشت MS دارای IAA (1 mg/l) و Kinetin (1.5 mg/l) و MS دارای Kinetin (1 mg/l) ، BA (1 mg/l) و IBA (1 mg/l) حاصل شد که بر این اساس بکارگیری این دو محیط کشت جهت حداکثر پرآوری در ریزازدیادی آلوئه توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: آلوئه، ریزازدیادی، نوک شاخساره، شاخساره

مقدمه

با توجه به اهمیت گیاهان دارویی در تولید ترکیبات موثره مورد نیاز جهت صنایع داروسازی و لوازم آرایشی و بهداشتی و همچنین رویکرد مجدد دنیا بخصوص کشورهای پیشرفته به استفاده از داروهای گیاهی و سنتی به جای داروهای شیمیایی، لزوم تحقیق بیشتر در مورد جنبه‌های مختلف تولید این گیاهان ارزشمند احساس می‌شود. یکی از گیاهان مهم دارویی که ازدیاد آن به کندی صورت می‌گیرد گیاه صبرزرد[1] با نام علمی *Aloe barabadensis* Mill. (Syn. *Aloe vera*) از خانواده Aloeaceae است.

آلوئه گیاهی گوشتی و چند ساله با ساقه روزتی بوده و توان تولید پاجوش بر روی ریشه ضخیم خود را دارد. گیاه بالغ دارای ۱۵-۱۲ برگ ضخیم و گوشتی با کناره‌های خاردار است. برگها ضخیم و دارای پارانشیم بی‌رنگ موسیلاژدار و شیره چسبنده است که این قسمت به عنوان بافت ذخیره کننده آب در گیاه محسوب می‌شود (۵).

ژل حاصل از برگ‌های این گیاه دارای ترکیبات شیمیایی بسیار متنوعی است و به عنوان یک ماده اولیه در ساخت دارو (۷، ۱۴، ۱۷) و تولید کرم‌های آرایشی و بهداشتی از اهمیت زیادی برخوردار است. ژل آلوئه حاوی ۹۹ درصد آب با pH= ۴/۵ و نوعی پلی ساکارید به نام گلوکومانان است که خاصیت مرطوب کنندگی ژل به دلیل وجود این پلی‌ساکارید

1. Aloe

مکاتبه کننده: یوسف حمیداوغلی
e-mail: hamidogli@yhoo.com

است. کربوهیدرات اصلی موجود در ژل، استیلات مانان یا اسمانان است. خاصیت ترمیم زخم‌ها، تقویت سیستم ایمنی (خصوصاً فعالیت ضد میکروبی) و فعالیت ضد ویروسی ژل، ناشی از وجود اسمانان است. نقش ضد تورمی ژل به دلیل وجود ترکیبات برادیکینیناز[1] و خاصیت ضد خارش پوست به دلیل وجود لاکتات منیزیم در ژل است (۱۸). به طور کلی ژل آلوئه دارای ترکیبات با خواص و فعالیت‌های بیولوژیکی و فیزیولوژیکی متنوعی همانند خاصیت ضد سرطان، ضد فعالیت ویروس ایدز، کاهش دهنده سطح کلسترول خون، درمان بیماری‌های پوستی و خواص بسیار دیگر است (۱۸، ۲۰).

آلوئه به دو روش جنسی و غیر جنسی ازدیاد می‌شود. در گونه *Aloe barbadensis* Mill. که مشهورترین گونه جهت تولید ژل است به دلیل پدیده نر عقیمی، بذر از طریق دگرگشنی تولید می‌شود، بنابراین ازدیاد از طریق بذر منتج به تفرق ژنتیکی به میزان زیاد در گیاهان تولیدی می‌شود(۱۳،۱۷). چون ازدیاد این گیاه به روش سنتی (بذر یا پاجوش) نمی‌تواند در کوتاه مدت گیاه مورد نیاز جهت تولید تجاری را فراهم آورد (۱۵) لذا با استفاده از کشت درون شیشه‌ای می‌توان نسبت به تولید انبوه و سالم آلوئه اقدام نمود.

رایج‌ترین روش ریزازدیادی این گیاه، جداسازی اندام‌های مریستمی مثل نوک شاخساره یا جوانه‌های جانبی و تحریک آنها به تولید گیاه کامل است (۹، ۱۲، ۱۵، ۱۷). اولین نتایج بدست آمده در زمینه ریزازدیادی آلوئه توسط ناتالی و همکاران (۱۹۹۰) و زائو (۱۹۹۰) با استفاده از کشت نوک شاخساره بر روی محیط موراشیگ و اسکوگ (۱۹۶۲) (MS) تکمیل شده با اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها (به ترتیب با میانگین ۲ و ۵ شاخساره به ازای هر ریزنمونه) گزارش شد (۱۶، ۱۷، ۲۱).

وجود برگ‌های اولیه روی ریزنمونه در توان رشد آتی آن نقش تعیین کننده‌ای دارد. توان رشد در جوانه‌های انتهایی و جانبی به علت اتکای آنان به منبع هورمونی وابسته به برگ‌های زیرین و بافت‌های ساقه است (۱، ۳). در بیشتر پژوهش‌های انجام شده با هدف ریزازدیادی آلوئه، از محیط کشت پایه MS جهت کشت نوک شاخساره استفاده شده است (۱۰، ۱۲، ۱۵، ۱۷، ۱۹). میر و استادن در سال ۱۹۹۰ طی پژوهشی حداکثر رشد جوانه و ریشه‌دهی شاخه‌ها را روی محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم IBA (ایندول بوتریک اسید) بدست آوردند. همچنین مجموع تعداد شاخساره تولید شده در هر گره بین ۱۲-۸ عدد متغیر بود. در این آزمایش با استفاده از اکسین‌های IAA (ایندول استیک اسید) یا NAA (نفتالین استیک اسید) به جای IBA تعداد کمی جوانه جانبی تشکیل شد و در محیطی که فقط IAA به کار رفت هیچگونه جوانه نابجایی تشکیل نشد (۱۵).

سایتوکینین‌ها باعث تسریع تقسیم سلولی، تشکیل اندام هوایی و ریخت‌زایی (۲، ۴)، نجات جوانه جانبی از چیرگی انتهایی و در نتیجه پرآوری شاخساره می‌شوند (۴، ۸). بر اساس تحقیقی در سال ۱۹۹۵، حداکثر میزان پرآوری از طریق کشت جوانه‌های انتهایی و محوری آلوئه روی محیط کشت تهیه شده با ۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۲/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA بدست آمد (۱۲). زوئو و همکاران (۱۹۹۹) طی آزمایشی، بهترین محیط را جهت تحریک رشد جوانه‌ها، محیط کشت MS تهیه شده با BA به میزان ۳ میلی‌گرم در لیتر معرفی نمودند.

در پژوهشی شاخساره‌های آلوئه به مدت ۳ هفته در محیط ریشه‌زایی MS همراه با ۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر IAA به علاوه ۰/۲۲ میلی‌گرم در لیتر IBA قرار داده شد. در پایان این مرحله گیاهچه‌ها به میزان ۱۰۰ درصد ریشه‌دار شدند (۱۳). در مرحله سازگاری، چادهوری و ماکیوندان (۲۰۰۱) با نگهداری گیاهچه‌های کشت بافتی به مدت ۲ هفته در رطوبت نسبی بالا، به تدریج آنها را به فضای برون شیشه‌ای سازگار نمودند.

مواد و روش‌ها

در تابستان سال ۱۳۸۱ گلدان‌های صبرزرد از یک گلخانه تولید آلوئه واقع در شهرستان نوشهر به گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان منتقل شدند. ریزنمونه‌های مورد نیاز این آزمایش از گیاهانی به ارتفاع ۲۰-۱۵ سانتی‌متر که به صورت رویشی از گیاهان بالغ تولید شده بودند تهیه شد. نوک شاخه‌ها همراه با دو برگ اولیه به اضافه ۲-۱/۵ سانتی‌متر از

1. Bradykininase

ساقه جدا و درآب جاری به طور کامل شستشو داده شد. در اتاقک استریل، ساقه‌های آلوئه در محلول ۲۰ درصد شوینده تجاری وایتکس (محتوی ۵/۲۵ درصد هیپوکلریت سدیم خالص) به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور شدند. سپس ریزنمونه‌ها ۳ بار با آب مقطر استریل شده به ترتیب به مدت ۲، ۳ و ۵ دقیقه شستشو داده شد. ریزنمونه نوک شاخساره به طول ۳-۲ میلی‌متر که متشکل از مریستم انتهایی همراه یا بدون برگ اولیه بود جدا و بر روی محیط کشت پایه MS همراه با ساکارز به میزان ۳ درصد و آگار به مقدار ۸ گرم در لیتر در pH =۵/۸ کشت گردید. جهت کنترل پدیده قهوه‌ای شدن محیط در اثر ترشحات قاعده ریزنمونه، بعد از اتوکلاو کردن، مقدار ۴ میلی‌گرم در لیتر اسید اسکوربیک استریل شده با فیلتر (۰/۲ میکرومتر) به محیط افزوده شد. با هدف استقرار ریزنمونه پاکسازی شده در محیط کشت، آزمایش مناسب بودن محیط غذایی جهت برآورد میزان بقاء و پرآوری ریزنمونه، تشخیص میزان قهوه‌ای شدن و راههای کنترل آن، تعداد ۲۲ تیمار هورمونی با انواع و غلظت‌های مختلف در ۳ تکرار و ۳ مشاهده مورد استفاده قرار گرفت.

جدول۱- غلظت و نوع تنظیم کننده‌های رشد در مرحله پرآوری

تیمار	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5	T_6	T_7
IAA	۱	۱	۱	۱	۰	۰	۰
IBA	۰	۰	۰	۰	۱	۱	۰
NAA	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰/۵
KINETIN	۰/۵	۱	۱/۵	۱	۱	۱	۱
BA	۰	۰	۰	۱	۰	۱	۰

کشت‌ها در دمای۱ ± ۲۶ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی (۲۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی در اتاقک کشت قرار داده شد. بعد از گذشت ۶۰-۴۵ روز، با مقایسه محیط‌های مختلف، ۷ محیط کشت برتر (جدول ۱) با تکیه بر صفاتی چون میزان بقاء و پرآوری و همچنین میزان قهوه ای شدن انتخاب و در مراحل بازکشت و پرآوری مورد استفاده قرار گرفتند.

پس از رشد نمونه‌های کشت شده و تولید جوانه‌های جانبی و نابجا در قسمت قاعده، جهت ارزیابی قدرت شاخه‌زایی و عادت پذیری گیاه به محیط‌های مختلف کشت انتخابی فوق و شرایط درون شیشه‌ای (۱۱)، اقدام به بازکشت شاخساره‌ها گردید. عمل بازکشت ریزنمونه‌ها ۳ دفعه و به فاصله یک ماه انجام شد و در بازکشت چهارم، ریزنمونه‌ها بر اساس طرح کاملاً تصادفی در ۳ تکرار که هر تکرار از ۳ مشاهده تشکیل شده بود، کشت گردیدند و صفات ارتفاع شاخساره، تعداد شاخساره، و میزان قهوه‌ای شدن محیط به عنوان شاخص‌های کمی مورد ارزیابی قرار گرفتند. عمل اندازه گیری به طور هفتگی و در مدت ۵ هفته یادداشت برداری گردید ولی فقط اعداد به دست آمده در پایان دوره ۵ هفته‌ای مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

با اندازه‌گیری رشد شاخساره‌ها، ارتفاع رشد بدست آمد. بدین صورت که از هر تکرار، بزرگترین شاخساره انتخاب و طول آن از قاعده تا نوک برگ انتهایی اندازه‌گیری شد. از این شاخص جهت تعیین زمان انتقال افزونه‌ها به محیط ریشه‌زایی استفاده شد. اندازه‌گیری متغیر تعداد افزونه از طریق خارج کردن شاخساره‌ها در پایان دوره آزمایش و شمارش آنها در هر تکرار به طور جداگانه انجام شد. جهت برآورد میزان قهوه‌ای شدن محیط کشت، از روش نمره‌دهی استفاده شد. بدین ترتیب که فقدان ترشحات قهوه‌ای در محیط با شماره ۱، کمی قهوه‌ای شدن با شماره ۲، قهوه‌ای شدن متوسط با شماره ۳ و قهوه‌ای شدن زیاد با شماره ۴ مشخص شد.

در مرحله ریشه زایی، شاخساره‌های ۳-۲ سانتی‌متری حاصل از مرحله پرآوری، پس از جدا نمودن از ریزنمونه اولیه در محیط MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و IAA کشت شد. بعد از گذشت ۳ هفته، شاخساره‌های ریشه‌دار شده جهت سازگاری با محیط بیرون به گلدان منتقل شدند. به منظور به حداقل رساندن تنش رطوبتی گیاهچه‌ها، ۳۰-۲۰ دقیقه قبل از انتقال، درب ظروف کشت را باز نموده تا گیاهچه‌ها به شرایط جدید سازگاری نسبی پیدا نمایند. در مرحله بعد بقایای آگار و مواد غذایی به آرامی از سطح ریشه‌ها شستشو داده شد و سپس گیاهچه‌ها به درون گلدان‌های کوچک پلاستیکی دارای ماسه و خاک به نسبت ۱:۱ منتقل شدند. به منظور جلوگیری از پژمردگی گیاهچه‌ها، لیوان‌های شفاف پلاستیکی (یکبار مصرف) به صورت وارونه بر روی گلدان‌ها قرار داده شد.

لازم به ذکر است که قبل از هر گونه تجزیه آماری ، آزمون نرمال (تست اسکیونس و کورتوسیس) بر روی داده‌های به دست آمده انجام شد (۶). به دلیل نرمال نبودن داده‌های مربوط به صفت تعداد شاخساره از تبدیل جذری $X = \sqrt{Y + 0.5}$ بر روی این داده‌ها استفاده گردید. تجزیه واریانس و آزمون دانکن بر روی کلیه داده ها با استفاده از نرم افزار آماری Mstatc و در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد ولی برای تفسیر نتایج و مقایسه میانگین‌ها از داده‌های اصلی استفاده شد.

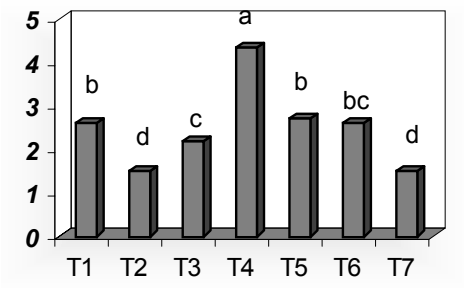
نتایج و بحث

استفاده از تبدیل جذری بر روی داده‌های مربوط به صفت تعداد شاخساره باعث نرمال شدن داده‌های مربوط به این صفت گردید. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کلیه تیمارها، روی صفات اندازه‌گیری شده اثر معنی‌داری دارند و امکان انتخاب بین این تیمارها وجود دارد (جدول۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثرات محیط کشت بر روی صفات اندازه‌گیری شده

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری شده(M.S.)		
		تعداد شاخساره	ارتفاع شاخساره	قهوه‌ای شدن محیط
محیط کشت	۶	۱۴/۹۴**	۲/۷۵**	۱/۲۷**
خطا	۱۴	۰/۳۳۳	۰/۰۷۴	۰/۰۹۵
کل	۲۰			
C.V.%		۱۷/۵۷	۱۱/۰۸	۱۹/۰۶

اثر محیط‌های مختلف بر روی میزان رشد شاخساره‌ها در سطح ۰/۰۱ تفاوت معنی‌داری داشت. افزونه‌های کشت شده در محیط دارای IAA (۱ میلی‌گرم در لیتر)، کینتین (۱ میلی‌گرم در لیتر) و BA (۱ میلی‌گرم در لیتر) از بیشترین رشد طولی (متوسط ۴/۳۳ سانتی‌متر) برخوردار بودند (شکل ۱). در گزارش‌های موجود، این صفت مورد آزمون و تجزیه و تحلیل قرار نگرفته است و فقط به صورت مشاهده‌ای میزان رشد ریزنمونه در محیط‌های مختلف گزارش شده است (۹، ۱۵، ۱۷). نسبت بالای سایتوکینین‌ها به اکسین در محیط رشد، رشد طولی افزونه‌ها را به دنبال داشت. هم‌چنین تعداد برگ در این محیط نیز نسبت به سایر تیمارهای دیگر محیط کشت از میزان بیشتری برخوردار بود.

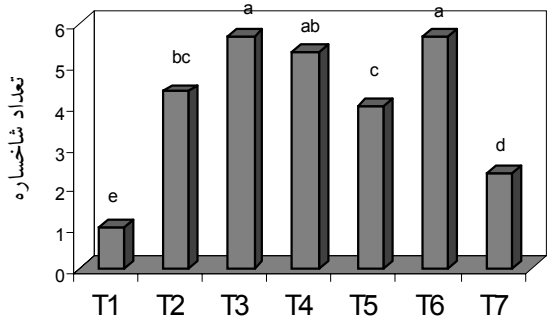


شکل ۱- اثر تنظیم کننده‌های مختلف رشد روی ارتفاع شاخساره در مدت ۵ هفته بعد از کشت

با توجه به شکل ۲، تیمارهای T_3 و T_6 با تولید میانگین ۵/۶۷ افزونه و T_4 با متوسط ۵/۳۳ افزونه به ازای هر ریزنمونه در بالاترین سطح پرآوری واقع شدند (شکل ۴) و تیمار T_1 از حداقل پرآوری (میانگین ۱ شاخساره به ازاء هر ریزنمونه) برخوردار است. میر و استادن (۱۹۹۱) حداکثر تولید جوانه‌های جانبی را در محیط حاوی IAA بدست آوردند (۱۵). همچنین در پژوهشی دیگر، بهترین محیط جهت پرآوری نوک شاخساره آلوئه، ترکیب ۰/۱۸ میلی‌گرم در لیتر IAA همراه با ۲/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA تشخیص داده شد (۱۲). در این آزمایش، افزایش کینتین سبب افزایش میزان پرآوری شد و به همین دلیل تیمار T3 در کلاس a قرار گرفت که با نتایج میر و استادان (۱۹۹۱) مطابقت ندارد زیرا آنها با افزودن ۱ میلی‌گرم در لیتر از تنظیم‌کننده‌های کینتین، BA یا TDZ (تیدیازورون) به محیط حاوی ۱ میلی‌گرم IBA، هیچگونه تاثیری در افزایش تولید افزونه مشاهده نکردند (۱۵).

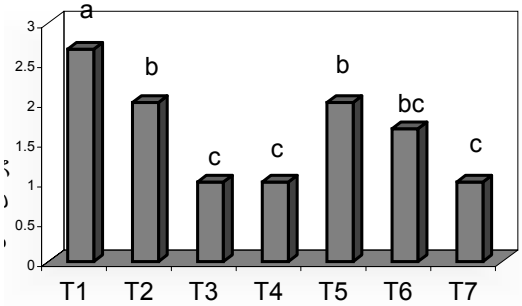
IAA موجود در محیط، رشد یاخته و آغازیدن شاخساره را تحریک می‌کند و از طرفی کینتین اثر بازدارندگی جوانه انتهایی بر روی رشد جوانه‌های جانبی را خنثی نموده و شرایط پرآوری شاخساره را فراهم می‌کند (۴، ۸). با این‌حال به نظر می‌رسد در حالتی‌که IAA و کینتین به مقدار مساوی (۱ میلی‌گرم در لیتر) در محیط بکار برده شوند، پرآوری در سطح پایین‌تری قرار می‌گیرد. ریزنمونه‌های کشت شده در حضور NAA (تیمار T_7) در طول ۳ بار بازکشت، نوعی کاهش در پتانسیل پرآوری نشان دادند بطوریکه در بازکشت چهارم به جای اندام‌زایی، بافت‌های حجیم و ضخیم در ناحیه قاعده ریزنمونه تولید گردید (شکل ۵) و برگها نیز به تدریج به رنگ سبز روشن تغییر رنگ دادند. در

آزمایش‌های میر و استادن (۱۹۹۱) نیز وقتی از NAA به جای IBA در محیط کشت استفاده شد نوعی کاهش در پتانسیل تولید جوانه جانبی رخ داد (۱۵).



شکل ۲ - اثر تنظیم کننده‌های مختلف رشد روی تعداد شاخساره در مدت ۵ هفته بعد از کشت

با اینکه کلیه محیط‌های مورد استفاده در این آزمایش اختلاف معنی‌داری در میزان قهوه‌ای شدن (جدول ۲) داشته‌اند ولی با توجه به میانگین‌ها (شکل ۳)، به دلیل وجود کینتین در محیط‌های کشت، میزان قهوه‌ای شدن محیط در سطح کم تا متوسط قرار دارد. این نتایج مغایر با نتایج ناتالی و همکاران (۱۹۹۰) مبنی بر قهوه‌ای شدن شدید و از بین رفتن نمونه‌ها در حضور کینتین است. همچنین با گزارش میر و استادن (۱۹۹۱) که بیان داشتند در محیط‌های کشت اولیه، زمانیکه از سایتوکینین‌هایی مثل BA یا TDZ به عنوان تنظیم‌کننده رشد انحصاری استفاده شد، نمونه‌ها ترشحات قهوه‌ای تولید کرده و از بین رفتند نیز مغایرت دارد.



شکل ۳- اثر تنظیم کننده‌های مختلف رشد روی شدت قهوه‌ای شدن محیط در مدت ۵ هفته بعد از کشت

شکل ۴- پرآوری در حضور IAA + BA + Kinetin (1mg/l)

تنظیم‌کننده‌های رشد از طریق اکسید کردن فنل‌ها، نقش مهمی در قهوه‌ای کردن محیط کشت دارند (۳). در این میان کینتین نقش موثری در ایجاد پدیده قهوه‌ای شدن دارد. علاوه بر این، بافت زخمی قاعده ریزنمونه و یا محل برش افزونه نیز ترشحات قهوه‌ای در محیط تولید می‌نماید (۱). با این وجود به نظر می‌رسد علت کاهش شدت قهوه‌ای شدن محیط در این آزمایش، به دلیل استفاده از آنتی اکسیدان اسید اسکوربیک به میزان ۴ میلی‌گرم در لیتر است که سبب کم شدن ترشحات قهوه‌ای محیط شد به طوریکه شدت قهوه‌ای شدن از میزان زیاد به دامنه کم تا متوسط رسید.

در مرحله ریشه‌زایی، با کشت شاخساره‌ها در محیط MS دارای IBA و IAA هر یک به میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، به طور متوسط ۵ عدد ریشه بدست آمد (شکل ۶). ریشه‌ها به طور مستقیم و از محل قاعده ساقه خارج شدند و از روی پینه‌های تشکیل شده در قاعده ساقه هیچگونه ریشه‌ای تشکیل نشد. بنابراین ارتباط آوندی بین ساقه و ریشه که مستلزم شروع جذب و انتقال املاح به بخش هوایی است به موقع صورت گرفت (۳).

شکل ۵- نحوه رشد ریزنمونه در حضور NAA

شکل ۶- شاخساره ریشه‌دار شده در حضور IBA+ IAA
(هر یک ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر)

شکل ۷- گیاهان آلوئه سازگار شده به فضای برون شیشه‌ای

در مرحله سازگاری، گیاهچه‌های آلوئه به میزان صد در صد با محیط بیرون سازگارشدند(شکل ۷). این نتیجه مطابق با نتایج پژوهشگرانی است که توانستند گیاهچه‌های آلوئه را به میزان ۹۸ تا ۱۰۰ درصد به شرایط خارج سازگار نمایند (۹، ۱۵، ۱۷).

نتیجه گیري کلي

در ریزازدیادی گیاه دارویی آلوئه علاوه بر بررسی میزان پرآوری، بررسی متغیرهای میزان رشد افزونه‌ها و میزان ترشحات قهوه ای محیط نیز از اهمیت قابل توجه‌ای برخوردار است زیرا در محیطی که از پرآوری بالایی برخوردار است اگر همزمان رشد افزونه‌ها نیز مطلوب باشد، گیاهچه‌ها زودتر به محیط ریشه‌زایی انتقال می‌یابند و یا با کنترل ترشحات قهوه‌ای محیط، رشد بهتر افزونه‌ها در محیط کشت فراهم می‌شود.

در این تحقیق مشخص شد که جهت دستیابی به حداکثر پرآوری، زمانیکه ریزنمونه‌ها در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA همراه با کینتین به میزان ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر به تنهایی و یا همراه با BA (هریک به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر) قرار داده شوند، حداکثر تولید شاخساره بدست می‌آید. این در حالی است که شاخساره‌ها نیز از ارتفاع رشد مطلوبی برخوردار بوده و از نظر شدت ترشحات قهوه‌ای در دامنه صفر تا کم قرار می‌گیرند. بر این اساس، استفاده از این ترکیبات هورمونی در محیط کشت جهت ریزازدیادی گیاه دارویی آلوئه تحت شرایط کشت درون شیشه‌ای توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان دکتر محمدرضا فتاحی مقدم، مهندس علی‌اکبر عبادی و همچنین خانم مهندس اخگری مسئول آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی که در طول انجام این تحقیق نهایت همکاری را مبذول داشتند قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده REFERENCES

۱. باقری، ع. و م، صفاری، ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت‌های گیاهی. دانشگاه فردوسی مشهد.
۲. باقری، ه. و پ. آزادی، ۱۳۸۱. کشت بافت گیاهی، تکنیک‌ها و آزمایش‌ها. ترجمه انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
۳. حاج نجاری، ح.، ۱۳۷۳. ریزازدیادی. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
۴. خوشخوی، م.، ۱۳۷۷. فنون کشت بافت گیاهی برای گیاهان باغبانی (بوستانداری). ترجمه. انتشارات دانشگاه شیراز.
۵. رضایی، م.، ک. جایمند و و. ا. مظفریان، ۱۳۷۵. شناخت گیاه صبرزرد و ترکیب‌های دارویی و شیمیایی آن. موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.
۶. یزدی صمدی، ب.، ع. رضایی و م. ولی‌زاده، ۱۳۷۶. طرح‌های آماری در پژوهش‌های کشاورزی. دانشگاه تهران.
7. Atherton, P., 1998. *Aloe vera* revisited. British Journal of Phytotherapy, 4(4), 176-183.
8. Bonga, J.M. & P.V. Aderkas, 1993. *In vitro* culture of trees. Kluwer Acadamic Publishers.

9. Chaudhuri, S. & U. Mukundan. 2001. *Aloe vera* L. Micropropagation and characterization of its gel. Phytomorphology. 51(2), 155-157.
10. Gui, Y.L., T.Y. Xu, S.R. Gu, S.Q. Liu, Z. Zhang, G.D. Sun & Q. Zhang. 1990. Studies on stem tissue culture and organogensis of *Aloe vera*. Acta Botanica, 32(8), 606-610.
11. Hamidoghli, Y. 1995. Production and identification of interspecific potato somatic hybrids. University of Paisley (Ph.D. desertation).
12. Hirimburegama, K. & N. Gamage. 1995. *In vitro* multi - plication of *Aloe vera* meristem tips for mass propagation. Horticultural Science. 27(3-4), 15-18.
13. Keijzer, C.J. & M. Cresti. 1987. A comparison of anther tissue development in maile sterile *Aloe vera* and male fertile *Aloe ciliaris*. Annals of Botany. 59:5, 533-542.
14. Kemper, K.J. & V. Chio, 1999. Aloe vera (*Aloe vera*). Longwood Herbal Task Force: http:/ / www, mcp. edu / herbal/ default .htm
15. Meyer, H.J. & J.V. Staden. 1991. Rapid *in vitro* propagation of *Aloe barbadensis* Mill. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 26(3), 167-171.
16. Murashige, T. & F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum 15:493-497.
17. Natali, L., I.C. Sanchez & A. Cavalini. 1990. *In vitro* culture of *Aloe barbadensis* Mill. Micropropagation from vegetative meristems. Plant cell, tissue and organ culture. 20(1), 71-74.
18. Reynolds, T. & A.C. Dweck. 1999. *Aloe vera* leaf gel: a review update. Journal of Ethnopharmacology. 68: 3-37.
19. Roy, S.C. & A. Sarkar. 1991. *In vitro* regeneration and micropropagation of *Aloe vera* L. . Scientia Horticulture. 47(1-2), 107-113.
20. Waller, G.R., S. Mangiafivo & C.R. Ritchey. 1978. A chemical investigation of *Aloe barbadensis* Miller. Department of Biochemistry, Oklahoma Agricultural Experimental Station. Proc. Okla. Acad. Sci. 58: 69-76.
21. Zhao, M. 1990. Rapid propagation of *Aloe variegata* by tissue culture. Journal of Shenyang Agricultural University. 21:2, 339-340.
22. Zhou, G.Y., D. HongFeng, S.W. Min, C. Lei, G.Y. Zhou, H.F. Ding, W.M. Shi & L. Cheng. 1999. Fast asexual propagation of *Aloe vera*. Acta Horticulturae Sinica. 26(6), 410-411.