

ریزازدیادی در *Eucalyptus melliodora*

- محمدحسن عصاره، عضو هیأت علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع
- خدیجه کیارستمی، عضو هیأت علمی دانشکده علوم پایه دانشگاه الزهرا
- زهرا وطن‌پور، دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه الزهرا
- عباس قمری زارع، عضو هیات علمی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع

تاریخ دریافت: تیرماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: مرداد ماه ۱۳۸۴

E-mail: zahravatanpour@yahoo.com

چکیده

اکالیپتوس از خانواده Myrtaceae یکی از گونه‌های غیر بومی ایران است. در بیشتر نقاط دنیا گونه‌های اکالیپتوس به خاطر سرعت بالای رشد، سازگاری به خاک‌های فقیر و دیگر صفات مطلوب به میزان وسیع در جنگل‌کاری بکار می‌روند. بنابراین تولید نهال این گونه‌ها به منظور توسعه جنگل‌کاری در ایران حائز اهمیت است. از آنجایی که تکثیر این گیاه با روش‌های معمول تکثیر از طریق جنسی (عدم حفظ صفات برتر) و غیرجنسی با مشکلاتی مواجه است، تکثیر درون شیشه‌ای (ریزازدیادی) روش جایگزینی است که در جهت تکثیر گونه‌های این جنس مورد توجه واقع شده است. از این رو در این پژوهش، اثر تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تکثیر نوشاخه‌ها از کشت میانگه *E. melliodora* مورد توجه قرار گرفت. در آزمایش‌های انجام شده، اثر ۹ تیمار مختلف شاخه‌زایی BAP (۰/۱، ۰/۶ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) و (2ip، ۰/۵ و ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی یا توأم بر روی شاخه‌زایی ریزنمونه‌های حاصل از دانه‌رست بررسی شد. به منظور افزایش رشد طولی ریزنمونه‌ها، نوشاخه‌های ایجاد شده در حضور 2ip و BAP، با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر GA₃ تیمار شدند. برای ریشه‌زایی از تیمارهای هورمونی مختلف D-۴ و ۲ و NAA هر کدام با غلظت‌های ۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. بررسی آماری نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که بهترین تیمارهای شاخه‌زایی به ترتیب 2ip + BAP به میزان ۰/۱، ۰/۵، BAP (۰/۱)، BAP (۰/۱)، 2ip (۰/۵)، 2ip (۰/۶) میلی‌گرم در لیتر بودند. در بین محیط‌های مورد استفاده برای ریشه‌زایی، محیط بدون هورمون غلظت صفر از هورمون‌ها بهترین پاسخ را نشان داد. بهترین ریشه‌زایی با تیمار هورمونی NAA با غلظت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد. ریشه‌زایی در محیط بدون هورمون با حداقل میزان کالوس همراه بود و در این محیط ریشه‌های هوایی تشکیل نشد. بنابراین از نظر کیفیت و کمیت ریشه، محیط بدون هورمون نسبت به محیط دارای ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA محیط بهتری است، در حالی که از نظر پاسخ شاخه‌زایی، از تلفیق سیتوکینین‌ها نسبت به تیمارهای دیگر پاسخ بهتری دریافت شد. گیاهک‌های کامل تولید شده پس از گذراندن دوره سازگاری با موفقیت به خاک منتقل شده و پس از مدت‌ها رشد و نمو طبیعی را نشان دادند.

کلمات کلیدی: اکالیپتوس، ریزازدیادی، شاخه‌زایی، ریشه‌زایی، BAP، 2ip و NAA

Pajouhesh & Sazandegi No 72 pp: 32-37

Micropropagation in *Eucalyptus melliodora*

By: M.H.Assareh, Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran, KH Kiarostami, Alzahra University, Tehran, Iran Z. Vatanpou, Alzahra University, Tehran, Iran and A. Ghamari Zare, Research Institute of Forest and Rangelands, Tehran, Iran

The Eucalyptus species are exotics in Iran, from Myrtaceae family and are planted widely in most countries for their fast growth, tolerant to poor soils and other excellent characteristics. Therefore, Eucalyptus seedling propagation is very important in Iran due to its role in extending forest plantation. Sexual and asexual propagation by seeds and cuttings causes problems due to high variable progenies and presence of rooting inhibitors in adult tissues, respectively. So, *in vitro* micropropagation techniques were used to prevent these problems. The aim of the study was to investigate the effects of growth regulators on shoot explants sampled from *E. melliodora* seedlings (internod segments). The experimental design was Randomized Complete Blocks (RCB) with nine treatments (BAP: 0.1, 9.6, 1.0 mg l^{-1} and 2ip: 0.5 and 0.6 mg l^{-1}) and five replicates and five explants at each plot. The regenerated shoots were treated with GA3 (0.05 mg l^{-1}), BAP and 2ip to increase their length growth. For rooting seven treatments of 2,4-D and NAA were applied at four concentrations (0, 0.1, 0.5 and 1.0 mg l^{-1}) Although the effects of different growth regulators on regenerated shoot growth characteristics (length, number, weight and fresh shoots and bud numbers) were significant, but the effects of both growth regulators and GA3 were only significant on shoots length. The best treatments for explants shooting were: BAP+2ip (0.1, 0.5 mg l^{-1}), BAP (0.1 mg l^{-1}), BAP (0.6 mg l^{-1}), 2ip (0.5 mg l^{-1}) and 2ip (0.6 mg l^{-1}), respectively. The best medium for rooting was the one without growth regulator where there was minimum callus and no aerial roots. Application of NAA concentration at 0.1 mg l^{-1} resulted in highest rooting. After climate hardening of the plantlets, they were transferred to soil and started a normal growth after a long period.

Keywords: Eucalyptus, Micropropagation, Rooting, 2iP, BAP, NAA.

مقدمه

جنگل‌های طبیعی کشور به عنوان ذخیره‌گاه ژنتیکی، بر قرارکننده تعادل در محیط زیست، کنترل کننده سیلاب و متوقف کننده بیابان زایی از ارکان زیر بنایی توسعه ملی کشور می‌باشند. مدیریت غیر علمی، برداشت بی‌رویه منابع، از دید جمعیت و سایر عوامل موجب تخریب این منابع تجدید شونده می‌گردند. احداث جنگل‌های مصنوعی با گونه‌های سریع‌الرشد در مناطق تخریب شده، همراه با مدیریت صحیح، ضامنی برای توسعه پایدار هر کشور بوده و از فشارهای وارد بر جنگل‌های طبیعی خواهد کاست.

برای این منظور خاص گونه‌های سریع‌الرشد برای جنگل‌کاری اراضی مخروبه مورد توجه واقع شده‌اند. از جمله آنها می‌توان به گونه‌های متعلق به سرده اکالیپتوس اشاره کرد. سرده اکالیپتوس چند صد گونه دارد. برخی از این گونه‌ها به خاطر ویژگی‌های بسیار خوب از جمله رشد سریع، کیفیت بالای چوب، سازگاری به خاک فقیر و غیره در سراسر

دنیا پرورش می‌یابند (۱۰).

گونه *E. melliodora* از نظر تولید چوب مقاوم به موریانه و نیز از نظر تولید عسل جزء بهترین گونه‌ها محسوب می‌شود (۱). به منظور تکثیر بسیاری از گونه‌های اکالیپتوس از روش ریزازدیادی استفاده می‌شود. درختان اکالیپتوس حاصل از کشت بافت از نظر میزان رشد، تولید زی توده و محتوای اسانس نسبت به درختان اکالیپتوس حاصل از تکثیر جنسی ارجحیت دارند. (۴، ۶). مطالعات انجام شده در مورد این گونه، به کار Defossard (۳) محدود می‌شود که با موفقیت اندک در کشت کالوس همراه بود. بنابراین در این پژوهش تکثیر این گونه به روش کشت بافت مورد بررسی قرار گرفت. در تکثیر اکالیپتوس به روش ریزازدیادی شاخه‌زایی به خوبی انجام نشده و شاخه‌های ایجاد شده از رشد مناسبی برخوردار نیستند. بنابراین مطالعه کنونی به منظور ارزیابی سیتوکینین مناسب در شاخه‌زایی و نیز غلظت بهینه اکسین در ریشه‌زایی *E. melliodora* انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

بذر گونه *E. melliodora* از پایه‌های دوازده ساله واقع در شمال خوزستان (عرض جغرافیایی $32^{\circ}16'$ شمالی و طول جغرافیایی $48^{\circ}25'$ شرقی با میانگین دمای روزانه 27 درجه سانتی‌گراد و نوع خاک شن لومی) جمع‌آوری و بوجاری شدند. بذرها پس از شستشو با آب جاری به مدت یک ساعت با هیپوکلریت سدیم $1/5$ درصد سترون و به محیط MS بدون هورمون حاوی ساکاروز (0.3%) و آگار $(1/6.8\%)$ انتقال یافتند. بعد از مدت ۴ هفته دانه‌رسته‌های رشد یافته (۳-۵ سانتی‌متر با دو برگ) جدا و جهت مراحل بعدی ریزازدیادی به قطعات یک سانتی‌متری بدون برگ تقسیم و به محیط مورد نظر انتقال یافتند.

در این پژوهش برای شاخه‌زایی از ۹ تیمار هورمونی مختلف در محیط کشت MS استفاده شد. تیمارهای هورمونی بکار رفته BAP با غلظت‌های 0.1 ، 0.5 و 1 میلی‌گرم در لیتر، 2iP با غلظت‌های 0.5 و 1 میلی‌گرم در لیتر و GA_3 با غلظت 0.5 میلی‌گرم در لیتر بودند (جدول‌های ۲ و ۳). آزمایش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام گرفت. هر تیمار شامل ۵ تکرار و هر تکرار شامل ۵ ریزنمونه^۱ بود. ظروف کشت حاوی ریزنمونه به دمای حداکثر 25 درجه سانتی‌گراد در روز و حداقل 15 درجه سانتی‌گراد در شب با فتوپریود 16 ساعت در روز و 8 ساعت در شب روشنایی لامپ‌های خورشیدی با انرژی $28-24$ لوکس و تهویه مناسب اتاق کشت منتقل شدند. پس از ۶ هفته طول شاخه، تعداد جوانه، رنگ شاخه، و وزن تر شاخه مورد بررسی قرار گرفت.

به منظور ارزیابی غلظت بهینه اکسین در ریشه‌زایی از هورمون‌های 4-D و NAA به غلظت‌های 0.1 ، 0.5 و 1 میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. تجزیه آماری داده‌ها با نرم افزار SAS انجام شد و میانگین‌ها به روش دانکن مقایسه گردید.

نتایج

اثر ۹ تیمار مختلف هورمونی روی شاخص‌های رشد و شاخه‌زایی (وزن تر، تعداد جوانه، تعداد شاخه، طول شاخه سبزیگی) *E. melliodora* در جدول ۱ ارائه شده است. در بین تنظیم کننده‌های رشدی بکار رفته تلفیق BAP (0.1 میلی‌گرم در لیتر) و 2iP (0.5 میلی‌گرم در لیتر) به طور موثری رشد طولی را افزایش داد. بعلاوه از نظر کیفی شاخه‌های تشکیل شده در این محیط نسبت به سایر محیط‌ها قویتر و شادابتر بودند. زمانی که سیتوکینین‌ها به تنهایی مورد استفاده واقع شدند، در غلظت‌های بالاتر BAP و در غلظت‌های پایینتر 2iP تاثیر بیشتری بر شاخه‌زایی نسبت به غلظت‌های دیگر داشتند. به طوری که BAP با غلظت 0.6 میلی‌گرم در لیتر و 2iP با غلظت 0.5 میلی‌گرم در لیتر بهترین

پاسخ را از نظر رشد و شاخه‌زایی نشان دادند. بیشترین شاخص سبزیگی نیز با ترکیب تنظیم کننده‌های رشدی BAP و 2iP به دست آمد (شکل ۱). بالاترین میزان تشکیل جوانه‌های نوپدید و نیز بهترین شاخص وزن تر در محیط MS با 0.6 میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. از آنجایی که در حضور 0.6 میلی‌گرم در لیتر BAP جوانه‌های بیشتری تشکیل شد، به منظور بررسی ایجاد شاخه‌های طبیعی، اثر هورمون GA_3 (0.5 میلی‌گرم در لیتر) همراه با هورمون‌های 2iP (0.5 میلی‌گرم در لیتر) + BAP (0.1 میلی‌گرم در لیتر)، BAP (0.6 ، 0.1 و 1 میلی‌گرم در لیتر) و IBA (0.1 میلی‌گرم در لیتر) بررسی شد. ترکیب هورمون‌های BAP (0.1 میلی‌گرم در لیتر) به همراه GA_3 ($0.5/0$) میلی‌گرم در لیتر) شاخه‌های طولی بوجود آورد، اما شاخه‌ها در مقایسه با تلفیق تنظیم کننده‌های رشدی BAP با 2iP ضعیف‌تر بودند. از نظر درصد تشکیل جوانه‌های نوپدید، BAP با غلظت 1 میلی‌گرم در لیتر بهترین پاسخ را ایجاد نمود. تعداد شاخه‌های طبیعی در تمامی تیمارهای هورمونی از نظر آماری در سطح 0.05 هیچ اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند. با تلفیق 2iP و BAP سبزیگی در بالاترین میزان قرار داشت. مقایسه وزن تر نشان داد که BAP با غلظت 1 میلی‌گرم در لیتر بهترین تیمار هورمونی بود (جدول ۲).

شاخه‌های تولید شده در مرحله پرآوری به طول 1 سانتی‌متر یا بلندتر به منظور ارزیابی ریشه‌زایی به محیط‌های نارسه انتقال یافتند (جدول ۳). ریزنمونه‌ها دو هفته پس از انتقال به تیمارهای مورد نظر پاسخ دادند. NAA 0.1 میلی‌گرم در لیتر بهترین تیمار هورمونی از نظر ریشه طبیعی بود و به ترتیب تیمارهای NAA با غلظت‌های 1 ، 0.5 میلی‌گرم در لیتر و 4-D و ۲، 0.1 ، 0.5 و 1 میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند (شکل ۳). با افزایش غلظت تنظیم کننده‌های رشدی 4-D و ۲ و NAA تشکیل ریشه‌های هوایی و ریشه همراه کالوس افزایش یافت (شکل ۲). در مجموع بین ۷ تیمار بررسی شده برای ریشه‌زایی، محیط بدون هورمون به علت عدم تشکیل ریشه هوایی و حداقل تشکیل ریشه همراه کالوس برترین تیمار ریشه‌زایی شناخته شد.

بحث و نتیجه‌گیری

بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر رشد طولی شاخه‌ها و تعداد جوانه‌ها، سبزیگی، تعداد شاخه، وزن تر شاخه‌های ایجاد شده و ریشه‌زایی شاخه‌های *E. melliodora* نشان داد که هر یک از این عوامل به یک نوع تنظیم کننده رشد پاسخ بهتری نشان می‌دهند. بررسی اثر سیتوکینین‌ها بر رشد طولی شاخه‌های ایجاد شده از قطعات میان‌گره دانه‌رسته‌های *E. melliodora* نشان داد که شاخه‌های به دست آمده از محیط MS حاوی 0.1 میلی‌گرم در لیتر BAP و 0.5 میلی‌گرم در لیتر 2iP بیشترین میزان رشد طولی را داشتند که نشان دهنده اثر مثبت



شکل ۱- اثر هورمون‌های مختلف بر شاخه‌زایی و شاخص سبزیگی کشت درون شیشه‌ای گونه *E. melliodora* (سمت راست BAP به تنهایی و چپ 1 میلی‌گرم در لیتر BAP و 0.5 میلی‌گرم در لیتر)

دادند که تلفیق توام سیتوکینین‌ها رشد طولی و ازدیاد شاخه را به میزان زیادی افزایش می‌دهد.

در نمونه‌های کشت شده *E. melliodora* میزان درصد تشکیل جوانه نوپدید با غلظت ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP به دست آمد. در نتیجه BAP نسبت به سیتوکینین‌های دیگر (مانند 2iP) شاخه‌زایی بیشتری نشان می‌دهد. در پژوهش دیگر نیز Rahman و همکاران ۲۰۰۲ نو شاخه‌های تشکیل شده در محیط حاوی BAP بیشترین میزان سبزیگی را داشتند (۶). محققین در مطالعه بر روی درخت موز کولتیوار Sabri نیز بیشترین میزان سبزیگی را در محیط حاوی BAP به دست آوردند (۲، ۶، ۷، ۹، ۱۱). از نظر شاخص وزن تر تیمارهای هورمونی برتر به ترتیب BAP ۰/۶، BAP ۰/۱، BAP ۰/۵، BAP ۰/۱، 2iP ۰/۶ و 2iP ۰/۱ ۵/۰ میلی‌گرم در لیتر بودند. BAP به علت توانایی بالا در شاخه‌زایی، زی توده بیشتری ایجاد میکند. بررسی رشد طولی شاخه‌های حاصل از تیمارهای هورمونی BAP (۰/۶، ۰/۵، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) به همراه GA_3 ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر) نشان داد که با کاهش غلظت BAP رشد طولی افزایش یافت. اما شاخه‌های به دست آمده علفی‌تر و غیرطبیعی بودند. Ramzan Khan و همکاران (۸) نیز علفی شدن شاخه‌ها در حضور GA_3 را در *Olea europaea* گزارش دادند.

بررسی شاخه‌های انتقال یافته به محیط‌های ریشه‌زایی نشان داد که بهترین تیمار از نظر ایجاد ریشه‌های طبیعی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود و افزایش غلظت NAA موجب افزایش میزان تشکیل کالوس قاعده‌های شد. تشکیل کالوس قاعده‌های با کاربرد NAA توسط Razman Khan (۸) روی *Olea europaea* L. نیز گزارش شده است. در حضور D - ۴، ۲ ریشه‌های ضعیفی تشکیل شد، با این وجود غلظت‌های پایین‌تر D - ۴، ۲ اثر بهتری داشتند. با افزایش غلظت D - ۴، ۲ میزان تشکیل ریشه کاهش اما میزان کالوس قاعده‌ای افزایش یافت. در این پژوهش، در محیط بدون هورمون همه ریشه‌ها در داخل محیط قرار می‌گرفتند و بر روی قسمت‌های جانبی ساقه ریشه‌ای تشکیل نشد. بعلاوه فراوانی تشکیل کالوس‌های



شکل ۲- نمونه دارای کالوس قاعده‌ای و ریشه هوایی

کاربرد توام سیتوکینین‌ها در افزایش رشد طولی شاخه است. کاربرد تلفیقی هورمون‌ها در افزایش و ازدیاد شاخه‌ها توسط محققین دیگر نیز گزارش شده است. Lakshimi Sita (۵) روی *E. tereticornis* با تلفیق ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin در محیط MS نشان

جدول ۱- اثر سیتوکینین‌های مختلف بر شاخه زائی ۴۲ *E. melliodora* روز پس از کشت بر شاخص‌های رشد

وزن تر (گرم)	سبزیگی	تعداد شاخه	تعداد جوانه	طول شاخه (سانتی‌متر)	تنظیم کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر)		
۰/۵۹	b	۳/۰۰	a ^۲	۹/۴۰	a	BAP + 2iP + IBA ۰/۱ ۰/۵ ۰/۰۱	
۰/۳۵	bc	۳/۰۰	a	۴/۰۰	b	۱۰/۲۰	BAP + IBA ۰/۱ ۰/۰۱
۱/۰۰	a	۳/۰۰	a	۸/۴۵	a	۱۸/۳۰	BAP + IBA ۰/۶ ۰/۰۱
۰/۰۸	c	۲/۰۰	b ^۳	۱/۱۵	b	۱/۶۱	2iP + IBA ۰/۵ ۰/۰۱
۰/۰۹	c	۲/۰۰	b	۱/۱۰	b	۲/۰۰	2iP + IBA ۰/۶ ۰/۰۱

* مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد. حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد بوده و * اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد معنی دار در سطح ۵ درصد و * اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد و * اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد و * اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد

۲- شاخه‌ها از نظر سبزیگی طبیعی

۳- سبزیگی شاخه‌ها کمتر و متمایل به زرد

جدول ۲- اثر سیستوکنین‌های مختلف به همراه GA³ بر شاخه‌زایی گونه *E. melliodora* ۴۲ روز پس از کشت بر شاخص‌های رشد مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد.

تنظیم کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر)	طول شاخه (سانتی‌متر)	تعداد جوانه	تعداد شاخه	سبزی‌نگی	وزن تر (گرم)
BAP+2iP+GA ³ +IBA ۰/۱ ۰/۵ ۰/۰۵ ۰/۰۱	۲۵/۸۳ a	۵۸/۰۰ a	۳۷/۶۷ a	۱۳/۰۰ a	۷/۱۸ a
BAP+GA ³ +IBA ۰/۱ ۰/۰۵ ۰/۰۱	۲۹/۳۷ a	۳۹/۰۰ a	۲۸/۰۰ a	۱۲/۰۰ a	۴/۴۰ b
BAP+GA ³ +IBA ۰/۶ ۰/۰۵ ۰/۰۱	۱۷/۵۳ a	۲۶/۶۷ a	۲۲/۶۷ a	۱۰/۶۶ ab	۵/۶۰ ab
BAP+GA ³ +IBA ۱ ۰/۰۵ ۰/۰۱	۸/۱۷ a	۶۷/۷۵ a	۲۶/۲۵ a	۶/۵۰ b	۱۰/۲۰ a
تجزیه واریانس	*	ns	ns	ns	ns

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و * اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است و ns عدم اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد.

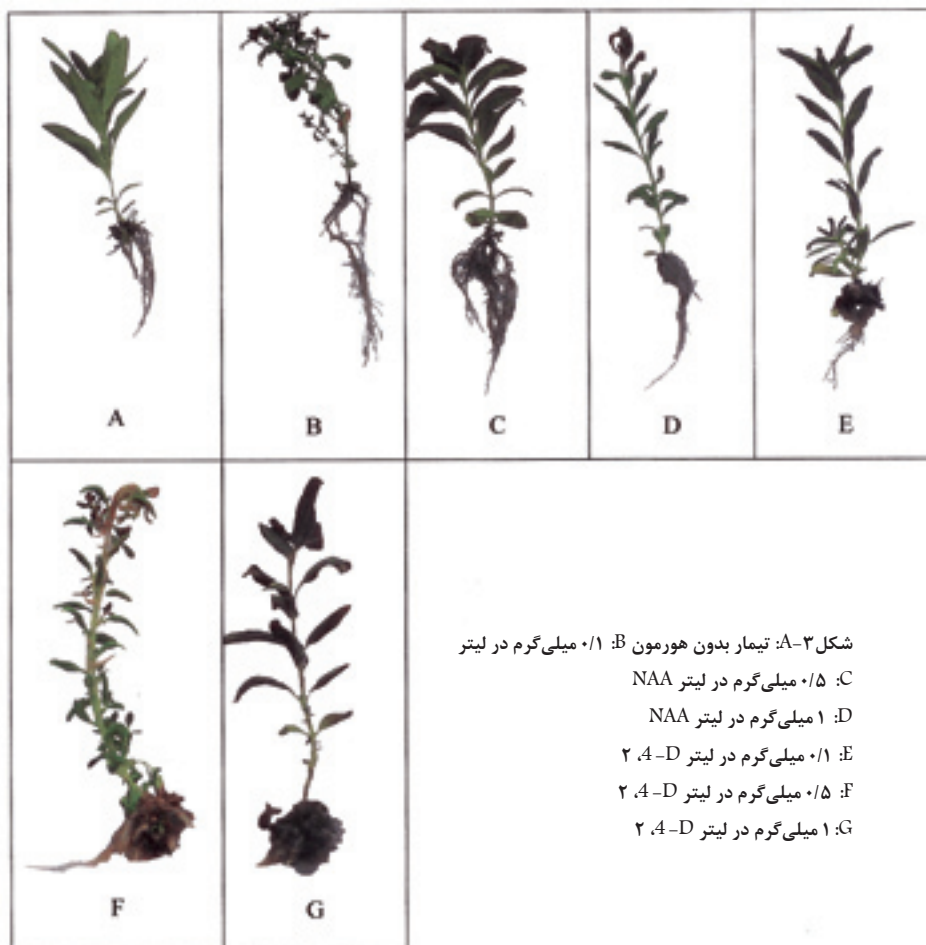
جدول ۳- اثر اکسین‌های مختلف بر ریشه‌زایی گونه *E. melliodora* ۴۲ روز پس از کشت بر شاخص‌های رشد، مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن انجام شد.

تنظیم کننده‌های رشد ریشه‌زایی (میلی‌گرم در لیتر)	ریشه طبیعی	ریشه هوایی	کالوس قاعده ای	نکروزه شدن	وضعیت شاخه‌ها بعد از ریشه‌ای
بدون هورمون	۱۱/۶۰ a	۰/۰۰ c	۰/۶۰ d	۰/۰۰ a	۹/۶۰ a
۲,۴-D ۰,۱	۲/۲۰ bc	۱/۲۰ c	۱۲/۰۰ c	۰/۶۰ a	۴۰/۸ ab
۲,۴-D ۰/۵	۱/۴۰ bc	۱۳/۰۰ a	۱۳/۳۳ ab	۰/۴۰ a	۶/۸۰ ab
۲,۴-D ۱	۰/۶۶ c	۱۴/۰۰ a	۰/۶۰ a	۰/۶۶ a	۶/۰۰ b
NAA ۰/۱	۱۵/۰۰ a	۰/۴۰ c	۸/۴۰ d	۰/۲۰ a	۱۰/۰۰ ab
NAA ۰/۵	۵/۴۰ b	۲/۲۰ c	۱۲/۰۰ bc	۰/۴۰ a	۷/۰۰ ab
NAA ۱	۱۴/۴۰ a	۹/۲۰ b	۰/۶۰ ab	۰/۰۰ a	۸/۰۰ a

حروف مشابه بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد و * * اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد را نشان می‌دهد.

صفحه ۴۳۴

- 2- Bennett I.J, J.A. McComb, C.M. Tonkin and D.A.J. Mc David. 1994; Alternating cytokinins in multiplication media stimulates In vitro shoot growth and rooting of *Eucalyptus globules* Labill. *Annals of Botany*, 74: 53-58
- 3- Defossard, Ra. 1974; Tissue culture of Eucalyptus. *Australian Forest*, 37: 43-54
- 4- Gupta, Pk. and A. Mascarenhas. 1986; Eucalyptus. *Cell and Tissue Culture in Forestry*. Volume 3.
- 5- Lakshimi sita, G. 1993; Micropropagation of Eucalyptus. Kluwer Academic Publisher, Printed in the Netherlands, 263-280.
- 6- Moshiur Rahman.Md., Md. GolamRabbani, Mohammad. Atikur Rahman and Md. Farid. Uddin. 2002; In vitro shoot multiplication and rooting of banana cv. Sabri, *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 5(2): 161-164.
- 7- Ndoye M., I. Diallo and, Y.K. Gassama/Dia. 2003; *In vitro* multiplication of the semi- arid forest tree, *Balanites aegyptiaca* (L.) del. *African Journal of Biotechnology*, vol. 2 (11), PP. 421-424.
- 8- Ramzan Khan, M, H. Radid and A. Quraishi. 2002; *In vitro* shoot development from juvenile cutting of field-grown olive (*Olea europea* L. cv. Leccino), *Online Journal Biological Sciences* 2(7): 438-440.
- 9- Sharma, S. V. Ramamurthy. 2000; Micropropagation of 4-year-old elite *Eucalyptus tertecornis* trees, *Plant Cell Reports*, 19: 511-518.
- 10- Teulieres.C and A. M.Boudet. 1991; Isolation of protoplasts from different Eucalyptus species and preliminary studies on regeneration, *Plant, Cell, Tissue and Organ Culture*, 25: 133-140.
- 11- Tomaszewska-sowa, M., L. Drozdowska and M. Szota. 2002; Effect of cytokinins on in vitro morphogenesis and ploidy of peeper *Capsicum annum* l. *Electronic, Journal of Polish Agricultural Universities*, 5, (1), series agronomy.



شکل ۳- A: تیمار بدون هورمون B: ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA C: ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA D: ۱ میلی گرم در لیتر NAA E: ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA₃-D, ۲ F: ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA₃-D, ۲ G: ۱ میلی گرم در لیتر GA₃-D, ۲

قاعده‌های بسیار پایین بود.

بر اساس آزمایشات می‌توان نتیجه گرفت در صورتی که در کشت *E. melliodora* هدف شاخه‌زایی باشد، کاربرد تلفیقی سیتوکینین‌ها اثری مهمتر از کاربرد سیتوکینین‌ها به تنهایی دارد، در صورتی که کاربرد GA₃ به علت ایجاد شاخه‌های علفی و با استحکام کم توصیه نمی‌شود. ریشه و تشکیل ریشه عامل مهمی در جذب آب و مواد غذایی است که در رشد بعدی گیاهک اهمیت زیادی دارد. با وجود اینکه استفاده از محیط حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA ریشه‌های طبیعی بهتری ایجاد نمود، اما استفاده از محیط بدون هورمون به علت کاهش تشکیل کالوس قاعده‌ای و ریشه‌های جانبی روی ساقه و نیز عدم مصرف تنظیم کننده رشد، بهترین تیمار ریشه‌زایی شناخته شد.

پاورقی

1- Explant

منابع مورد استفاده

۱ - جوانشیر، کریم و مصدق، احمد. ۱۳۵۶؛ اکالیپتوس. انتشارات دانشگاه تهران،