



در

منابع طبیعی شماره ۷۵، تابستان ۱۳۸۶

پژوهش ساززندگی

## مطالعه ریزازدیادی در گیاه دارویی سیاه گینه (*Denderostellera lessertii* VanTiegh)

### • عباس قمری زارع

عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

### • مه‌لقا قربانلی

عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

### • شیدا حسینی

دانشجوی سابق کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران

### • شکوفه شهرزاد

محقق مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور

تاریخ دریافت: مهر ماه ۱۳۸۴ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۵

Email: ghamari-zare@riftr-ac.ir

### چکیده

سیاه گینه حاوی عصاره سمی در برگ‌ها است که ترکیب خالص آن، تکثیر سلول‌های سرطانی را کاهش می‌دهد و از پیشرفت تصاعدی آنها جلوگیری می‌کند. نظر به اهمیت این گونه، مشکلات موجود در جوانه‌زنی بذور و ضرورت ایجاد مزرعه یکنواخت، امکان ریزازدیادی آن بررسی شد. به منظور کشت بافت، پس از خیساندن بذرها در زیر آب جاری به مدت ۴۲ ساعت و سترون‌سازی با محلول هیپوکلریت سدیم ۱٪ به مدت ۵ دقیقه، کشت بذرها در محیط کشت MS انجام شد. با رویش ریشه و ساقچه در محیط کشت، ساقچه از محل یقه قطع شده و شاخه‌زایی در محیط کشت MS با هورمون‌های شاخه‌زایی BAP و 2iP در محدوده غلظتی ۰/۳ تا ۰/۵ mg/l مورد بررسی قرار گرفت. میزان شاخه‌زایی و رشد طولی با ۷ تیمار محیط کشتی در قالب طرح‌های کامل تصادفی انجام و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون دانکن ( $\alpha=0/05$ ) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. بهترین شاخه‌زایی به همراه رشد طولی مناسب و ضریب ازدیاد بیشتر در محیط کشت MS با نصف میزان نیترات به همراه هورمون‌های BAP و 2iP (۰/۳ mg/l) و IBA (۰/۰۱ mg/l) انجام پذیرفت. ریشه‌زایی شاخه‌های حاصل در ۱۵ تیمار مختلف از لحاظ میزان استفاده از هورمون‌های ریشه‌زایی، نیمه جامد یا مایع بودن بستر کشت و کاهش شکر و عناصر پرمصرف مورد آزمون قرار گرفت. ریشه‌زایی در محیط کشت MS تغییر یافته، با یک سوم غلظت عناصر پرمصرف (به استثنای ترکیبات آهن)، یک دوم غلظت نیترات و یک سوم مقدار شکر (ساکارز) استاندارد، همراه با هورمون (۰/۵ mg/l) IBA صورت گرفت. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده پس از انتقال به گلدان‌های حاوی مخلوط خاک برگ، پرلیت و ماسه به نسبت مساوی (۱:۱:۱) برای طی مراحل مختلف سازگاری به ژرمیناتور و سپس به گلخانه منتقل شدند.

کلمات کلیدی: جوانه‌زنی، سلول‌های سرطانی، هورمون، کشت بافت، آندوسپرم، شیشه‌ای شدن، ریشه‌زایی و سازگاری

Pajouhesh & Sazandegi No 75 pp: 173-178

### *In vitro* micropropagation of *Denderostellera lessertii* Van Tiegh

By: A. Ghamari Zare, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.

M. Ghorbanli, Scientific Board Member of Gorgan Azad Islamic University, Gorgan, Iran.

S. Hosseini, Master of Science Student of Payame Noor University, Tehran, Iran.

S. Shahrzad, Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran.

*Denderostellera lessertii* Van Tiegh has been distributed around rangeland of Iran as an endemic plant species. The plants were not interest for animal and poultry, because of un-palatability. It's leaves extraction contains poisonous chemical materials which prevents cancer cells progression. The pure extraction *D. lessertii*'s leaves effect on alkaline phosphatase enzyme of four types of human cancer cells. The seeds of *D. lessertii* were collected from rangelands of Esfahan and Markazi provinces of Iran. Seeds, after 42 hours being under running water, were disinfect with NaOCl (1%) for 5 min and cultured on medium treatments in a complete randomized block designed and the means of them were compared with Duncan test at  $\alpha=5\%$ . The best treatment for shooting was MS medium contains  $\frac{1}{2}$  KNO<sub>3</sub>, BAP (0.3 mg/l), 2ip (0.3 mg/l) and IBA (0.01 mg/l). Rooting of shoots carried out in 15 culture medium treatments (root's hormone, semi-solid or liquid substrate and concentration of sucrose and macro elements). The best treatment for rooting was 1/3 MS semi-solid contains 1/3 macro elements,  $\frac{1}{2}$  KNO<sub>3</sub> and 1/3 Sucrose, with the IBA (0.5 mg/l). Rooted plantlets translated to puts contains humus, perlit and sand with the same amount (1:1:1) in germinator for adaptability.

**Keywords:** Medicinal plant, Cancer cells, Micropropagation, Shooting, Rooting and adaptability

مقدمه

مراعات از مهمترین و با ارزش ترین منابع ملی کشور می باشند که بهره برداری توأم با عملیات اصلاح و احیاء آنها می تواند نقش اساسی در جهت حفظ آب و خاک و تأمین نیازمندی های کشور در زمینه فرآورده های پروتئینی و طب سنتی داشته باشد (۸). یکی از مهمترین جنبه های استفاده از مراعات وجود گیاهان دارویی است که توجه مراکز داروسازی را به خود جلب کرده است (۷). سیاه گینه (*Denderostellera lessertii* VanTiegh) از تیره مازویون (Thymelaeaceae) از جمله گیاهان بوته ای چند ساله با ساقه چوبی است که به صورت طبیعی و خودرو در قسمت عمده ای از مراعات ایران، از جمله آذربایجان، منجیل، خمسه، همدان، ملایر، اراک، فارس، اصفهان، دامنه جنوبی البرز، یزد، خراسان و سمنان انتشار دارد (۱، ۱۵).

سیاه گینه از جمله گیاهان دارویی مرتعی است که می تواند نقش به سزایی در صنعت داروسازی داشته باشد (۱۷). خاصیت دارویی و اثر ضد توموری سیاه گینه مربوط به عصاره سمی موجود در برگ های آن است. اثر عصاره برگ های این گیاه روی فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در چهار سری سلول های سرطانی انسان بررسی شده است. از برگ های این گیاه یک استری دی تریپن جدا کرده اند. با استخراج این استر جدید اثر این عصاره سمی برگی را روی چهار سری سلول لوسمیایی، سلول سرطانی پروستات و سلول سرطانی تیروئید مورد بررسی قرار داده اند. این ترکیب خالص عصاره سلولی به طور قابل توجهی تکثیر سلول های سرطانی را کاهش می دهد. همچنین از پیشرفت تصاعدی سلول های سرطانی در مرحله عبور از G<sub>1</sub> به S نیز جلوگیری می کند (۱۷).

برای تکثیر سریع گیاهان به ویژه گیاهانی که ازدیاد غیرجنسی آن ها با روش های سنتی غیر ممکن و یا مشکل می باشد، (۳) و یا گیاهانی که علاوه بر مشکلات موجود در تکثیر غیرجنسی آنها نیز با مشکلات عدم پایداری ژنتیکی (Genetic instability)، عدم توان تولید بذر و یا عدم وجود بذر مناسب جهت کاشت روبروی می باشند، برای تکثیر آنها از روش های ریزازدیادی کمک گرفته می شود (۴). ریزازدیادی اعم از ایجاد جوانه های جانبی و یا شاخسارهای درون شیشه ای حاصل از کشت ریزنمونه ها ریشه دار کردن، سازگار نمودن و انتقال گیاهچه ها، است (۵). لازمه اندام زدایی تمایز اندام های گیاهی یعنی ریشه، ساقه و برگ، در نتیجه کشت بافت ها و سلول های گیاهی می باشد. این توانایی، از یک یا تعدادی سلول در کالوس منشأ می گیرد. سلول (یا سلول ها) سریعاً فعال و تقسیم می شوند و تشکیل یک مریاستموئید را می دهند. مریاستموئید، یک توده سلولی شبه مریستم است که خاستگاه یک ریشه یا یک ساقه اولیه می باشد. بنابراین برای تکثیر سریع و تولید انبوه و جلوگیری از آسیب رساندن به مراعات و منابع طبیعی، ریزازدیادی سیاه گینه به روش کشت بافت، مناسب ترین راه برای رسیدن به این اهداف مهم است. ایجاد مزارع یکنواخت جهت تولید مواد گیاهی مقدار و نوع موثره مشخص از دیگر ضرورت های ریزازدیادی این گیاه است. همچنین موفقیت در ریزازدیادی و کشت جنین انجام عملیات تحقیقات به نژادی را آسان تر می نماید.

## مواد و روش‌ها

تولید شده بررسی گردید. تیمارهای ریشه‌زایی، محیط کشت MS با نصف غلظت نیترات همراه با غلظت‌های متفاوت هورمون‌های ریشه‌زایی بود. بهترین تیمار محیط کشت ریشه‌زایی بر اساس درصد ریشه‌زایی تیمارها، تعیین شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده برای سازگاری به گلدان‌های حاوی خاک برگ، ماسه و پرلیت به نسبت ۱:۱:۱ (استریل شده در آون ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) برای طی مراحل سازگاری به ژرمیناتور و سپس به گلخانه منتقل شدند.

## نتایج

تجزیه واریانس اثر هفت نوع تیمار محیط کشت (جدول ۱) بر ریزازدیادی (شاخه‌زایی) سیاه‌گینه مبین اختلاف بسیار معنی‌دار تیمارهای مختلف محیط کشت در صفات شاخه‌زایی، رشد طولی و متوسط طول جوانه بود (جدول ۳). حداکثر میانگین صفات مختلف شاخه‌زایی (شکل ۱) تحت تأثیر محیط کشت‌های مختلف متفاوت بود (جدول ۴). بیشترین تعداد شاخه و حداکثر ارتفاع بلندترین شاخه در محیط کشت ۴ (MS با نصف غلظت نیترات همراه با ۰/۳ mg/l kin, ۰/۳ mg/l IBA, ۰/۱ mg/l IBA) به دست آمد ولی حداکثر ارتفاع متوسط شاخه‌ها در محیط کشت ۳ (MS با نصف غلظت نیترات همراه با ۰/۳ mg/l IBA و ۰/۱ mg/l IBA) حاصل شد (جدول ۴). همچنین بررسی

بذرهای سیاه‌گینه از رویشگاه‌های طبیعی آن در شهرستان گلپایگان کوه حاجی‌قارا (استان اصفهان) و شهرستان شازند، قره کهریز، قشلاق (استان مرکزی) جمع‌آوری گردید. بذرهای دارای جنین سیاه‌گینه پس از ۴۲ ساعت خیساندن در معرض آب جاری و سترون‌سازی با هیپوکلریت سدیم ۰/۱٪ یا محلول اتانول ۰/۷۰٪، در محیط استریل با اسکالپل خراش مکانیکی داده شد. پس از ۴ هفته گیاهچه‌های سیاه‌گینه از محل یقه قطع و شاخه‌های منفرد در محیط کشت MS (۱۴) همراه با هورمون‌های شاخه‌زایی کشت شدند. در بازکشت شده‌ها، ریزنمونه‌هایی به طول حدود ۱-۰/۷۵ سانتی‌متر در تیمارهای مختلف محیط کشت، کشت شدند. محیط‌های مختلف کشت با ترکیبات متعدد تنظیم‌کننده‌های رشد (جدول ۱) جهت ازدیاد گیاهچه‌های درون شیشه‌ای حاصل از کشت جنین مورد استفاده قرار گرفت. آزمون اثرات تیمارهای مختلف ریزازدیادی در قالب طرح آماری بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار با نرم‌افزار SAS انجام شد و بهترین تیمار محیط کشت شاخه‌زایی بر اساس درصد شاخه‌زایی (تعداد جوانه فعال و شاخه‌های تازه ایجاد شده)، طول شاخه و تعداد جوانه تعیین شد. پس از تولید شاخه کافی در محیط کشت برتر شاخه‌زایی، اثر ۱۴ تیمار محیط کشت ریشه‌زایی (جدول ۲) بر شاخه‌های

جدول ۱: اثر تیمارهای محیط کشت درون شیشه‌ای بر شاخه‌زایی سیاه‌گینه

ردیف	نوع محیط	نوع هورمون	مقدار هورمون mg/l	ضریب ازدیاد شاخه‌زایی	ضریب ازدیاد رشد طولی	وضعیت ظاهری شاخه‌ها
۱	MS	BAP 2ip IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۵/۴	۱/۴	برگ‌ها طبیعی، گیاه مقاوم، سبزیگی طبیعی و عدم شیشه‌ای شدن
۲	MS	BAP IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۵/۷۵	۱/۴	برگ‌ها باریک، سبزیگی نسبتاً طبیعی، عدم شیشه‌ای شدن
۳	MS	2ip IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۱/۲	۱/۸	برگ‌ها کشیده و تا حدی نافرمان، سبزیگی کمتر و عدم شیشه‌ای شدن
۴	MS	BAP kin IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۶/۰۱	۲/۲	برگ‌های طبیعی، سبزیگی طبیعی و عدم شیشه‌ای شدن
۵	B۵	BAP 2ip IBA	۰/۳ ۰/۳ ۰/۰۱	۲/۱	۱/۳	برگ‌ها نافرمان، سبزیگی کمتر و نکروزه و عدم شیشه‌ای شدن
۶	B۵	BAP IBA	۰/۳ ۰/۰۱	۲/۲	۱/۳	برگ‌ها پژمرده، نکروزه و عدم شیشه‌ای شدن
۷	MS نیترات کامل	BAP 2ip IBA	۰/۵ ۰/۵ ۰/۰۱	۴/۶	۱/۵	برگ‌ها طبیعی، سبزیگی طبیعی و شاخه‌ها شیشه‌ای شدن.

تذکر: در تیمارهای ۱ تا ۶ نیترات در غلظت ۰٫۰۱ بود.

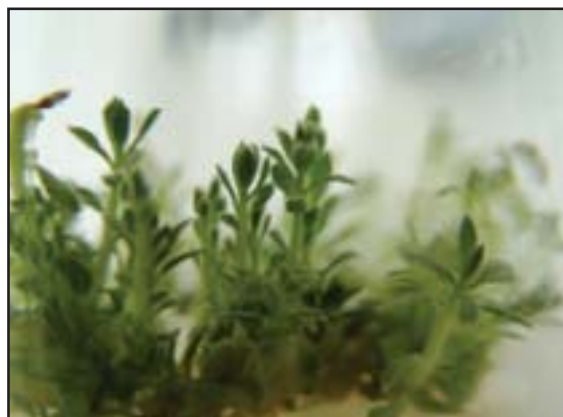
غلظت نیترات حاوی هورمون‌های BAP (۰/۵ mg/l)، Zip (۰/۵ mg/l) و IBA (۰/۱ mg/l) بود. به علت عدم دسترسی به ماده ضد شیشه‌ای شدن تغییرات هورمونی یا محیطی انجام شد که با انجام تغییرات هورمونی، مشکل شیشه‌ای شدن بافت‌های گیاهی برطرف گردید.

اثر محیط کشت‌های مختلف ولی با ترکیب هورمونی مشابه بر شاخه‌زایی ریزنمونه‌های سیاه‌گینه نشان داد که محیط کشت MS برتر از محیط کشت B<sub>5</sub> بود. همچنین یکی از عوامل تعیین‌کننده کارایی محیط کشت، قدرت یونی ترکیب‌های موجود در آن می‌باشد (۹). در بررسی تأثیر هم‌زمان دو عامل محیط کشت و غلظت هورمون بر شاخه‌زایی، رشد طولی اندام هوایی ریزنمونه‌ها، مشخص شد که بیشترین میزان تکثیر، رشد شاخه و شاخه‌زایی متعدد، از محیط کشت MS با نصف میزان نیترات به همراه هورمون‌های BAP و kin (۰/۳ mg/l) و IBA (۰/۱ mg/l) بدست آمد.

ترکیبات سه نوع هورمون شاخه‌زایی شامل Zip، BAP و kin در دو غلظت ۰/۳ و ۰/۵ mg/l در محیط‌های MS و B<sub>5</sub> بر شاخه‌زایی سیاه‌گینه نشان داد که بیشترین شاخه‌دهی در تیمار محیط کشت ۳ که فاقد هورمون BA بود، مشاهده شد. در سه گونه Atriplex نیز هورمون BA از نظر شاخه‌زایی نسبت به دو هورمون سیتوکینین (Zip و Kin) برتر بود (۶). لیکن Baraldi (۱۰) در بررسی اثر BA بر روی *Prunus irsitta* نتیجه گرفت که BA رشد طولی شاخه‌ها را کاهش می‌دهد. همچنین بر اساس تجربیات Zaerr و Mapes (۱۶)، BA از گروه‌های دیگر سیتوکینین یعنی Kin، Zip و زاتین فعال‌تر است و از آنجا که BA از همه ارزان‌تر است و می‌توان به راحتی اتوکلاو شود، برای ریزازدیادی تجارتي که سهولت و ارزش اقتصادی اهمیت دارد، بیشتر قابل استفاده است. Gohet (۱۲) در کشت گیاه *Garcinia mangostana* ملاحظه کرد که شاخه‌های بدست آمده بر روی محیط BA نسبت به Zip و Kin بیشتر بود.

ریشه‌زایی در محیط کشت MS (با میزان ¼ نیترات) و هورمون ریشه‌زایی IAB در غلظت‌ها مختلف (جدول ۲)، صورت نگرفت. اما با کاهش مقدار عناصر پرمصرف، مقدار شکر (ساکاروز)، گیاهان تحریک به ریشه‌دهی شدند. درصد ریشه‌دهی شاخه‌های حاصل در محیط کشت MS با کاهش به ¼ مقدار عناصر پرمصرف (به استثنای ترکیبات آهن)، کاهش میزان شکر (ساکاروز) به ¼ مقدار استاندارد، ¼ میزان نیترات و به همراه هورمون (IBA ۰/۵ mg/l) برتر از سایر محیط کشت‌های ریشه‌زایی بود (جدول ۲). با کاهش غلظت عناصر پرمصرف محیط، فشار اسمزی محیط کشت کاهش یافته و این کاهش اسمزی، گیاه را وادار می‌کند تا با ایجاد ریشه و تارهای کشنده، اقدام به جذب املاح و مواد غذایی از محیط کشت کند.

در مرحله شاخه‌زایی سیاه‌گینه، به خصوص در مرحله اولیه که بازگشت نمونه‌ها با مقدار نیترات کامل صورت گرفته بود، ریشه‌زایی نمونه‌ها در محیط کشت شاخه‌زایی نیز دیده شد. در مرحله شاخه‌زایی با پدیده شیشه‌ای شدن نمونه‌ها مواجه گردیدیم که مجبور به تغییر محیط کشت پایه MS شدیم. حضور نیترات پتاسیم در محیط MS از جمله عواملی است که باعث یونی شدن محیط کشت و پدیده شیشه‌ای شدن می‌شود. از طرفی حضور نیترات پتاسیم که عامل ریشه‌زایی است علت ریشه‌دهی نمونه‌های اولیه را در محیط کشت MS و با نیترات کامل را تقویت می‌کند. Sriskan و همکاران (۱۶) در گیاه *Malus domestica* نتایج مشابهی بدست آوردند. آنها گیاه مزبور را در محیط MS کشت داده و با افزایش سطح‌های نیترات پتاسیم ریشه‌زایی را افزایش دادند.



شکل ۱: شاخه‌زایی در محیط کشت بهینه



شکل ۲: ریشه‌زایی شاخه‌های بدست آمده

درصد ریشه‌زایی شاخه‌های بدست آمده در تیمارهای مختلف محیط کشت (جدول ۲)، نشان داده که بالاترین درصد ریشه‌زایی (شکل ۲) در تیمارهای محیط کشتی از تیمار ۱۲ (MS) ¼، همراه با ¼ شکر، ¼ نیترات، (IBA ۰/۵ mg/l) بدست آمد.

### بحث و نتیجه‌گیری

به علت سمیت برگ‌ها و عدم خوشخوراکی سیاه‌گینه تحقیقات اندکی در مورد این گیاه انجام یافته است. بر طبق اطلاعات ما این اولین مطالعه در مورد ریزازدیادی سیاه‌گینه است. به نظر می‌رسد که اثر انواع محیط کشت‌های مختلف بر رشد و نمو و اندام‌زایی متفاوت است. عناصر شیمیایی شامل عناصر پرمصرف و عناصر کم مصرف از عوامل اساسی محیط کشت است و فرمول نمک‌های معدنی مختلف و اجزاء متفاوت املاح (مثل نصف شدن یا دو برابر شدن قدرت محیط) می‌توانند تحریکات مختلفی را در رشد گیاهک‌های درون شیشه‌ای باعث شوند. سطوح و انواع قندها و کاهش نیتروژن محیط نیز می‌توانند ریخت‌زایی را تحت تأثیر قرار دهند (۲). همچنین فیتوهورمون‌ها در تنظیم و توسعه و اندام‌زایی درون شیشه‌ای مؤثرند (۱۱). شیشه‌ای شدن نمونه‌ها، مشکل عمده کشت بافت سیاه‌گینه در محیط MS بانصف

جدول شماره ۲: تیمارهای درون شیشه‌های ریشه‌زایی، کشت بافت سیاه گینه

ردیف	نوع محیط	نوع هورمون	میزان هورمون mg/l	وضعیت نور و دما	درصد ریشه‌زایی	وضعیت ظاهری ریشه
۱	MS	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-
۲	MS	IBA	۰/۱	روشنایی	-	-
۳	MS	IBA	۱	روشنایی	-	-
۴	MS	NAA	۰/۵	روشنایی	-	-
۵	MS	IBA 2ip	۰/۱ ۰/۵	روشنایی	-	-
۶	$\frac{1}{3}$ MS	IBA	۰/۵	۱ - روشنایی ۲ - تاریکی	۱۰٪ ۴٪	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده
۷	$\frac{1}{3}$ MS (سوکروز $\frac{1}{3}$ )	IBA	۰/۵	۱ - روشنایی ۲ - تاریکی	۳۰٪ ۳۰٪	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، قطور، ترد و شکننده ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، ترد و شکننده
۸	$\frac{1}{3}$ MS (مایع) $\frac{1}{3}$ سوکروز	IBA	۰/۵	روشنایی	۰/۸	ریشه‌ها نسبتاً طبیعی، قطور و ترد و شکننده
۹	$\frac{1}{3}$ MS سوکروز $\frac{1}{3}$	IBA 2ip IBA 2ip IBA 2ip	۰/۵ ۰/۲ ۰/۵ ۰/۲ ۰/۵ ۰/۲	۱ - روشنایی ۲ - تاریکی ۳ - یک هفته دمای ۳۰°C و بعد انتقال به روشنایی	- - - -	- - - -
۱۱	$\frac{1}{2}$ MS سوکروز نصف	۲,۴-D	۰/۵	روشنایی	-	-
۱۰	$\frac{1}{3}$ MS سوکروز $\frac{1}{3}$	IBA 2ip IBA 2ip IBA 2ip	۰/۵ ۰/۴ ۰/۵ ۰/۴ ۰/۵ ۰/۴	روشنایی تاریکی یک هفته دمای ۳۰°C	- - - -	- - - -
۱۲	$\frac{1}{3}$ MS $\frac{1}{3}$ سوکروز	IBA	۰/۵	روشنایی	۴۵٪	ریشه‌ها طبیعی، بلند، ترد و شکننده
۱۳	$\frac{1}{3}$ MS سوکروز $\frac{1}{3}$ مایع	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-
۱۴	$\frac{1}{3}$ MS سوکروز $\frac{1}{3}$	IBA	۰/۵	روشنایی	۲۰٪	ریشه‌ها طبیعی، بلند، ترد و شکننده
۱۵	$\frac{1}{3}$ MS سوکروز $\frac{1}{3}$ مایع	IBA	۰/۵	روشنایی	-	-

در ریزازدیادی سیاه گینه به علت مشکل شیشه‌ای شدن، در تمامی تیمارهای محیط کشت به ناچار نیترات محیط کاهش یافت. در نتیجه ریشه‌زایی سیاه گینه با کاهش عناصر پرمصرف و مواد قندی محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی بررسی شد. بیشترین ریشه‌زایی (۴۵٪) از محیط کشت  $\frac{1}{3}$  MS (به استثنای ترکیبات آهن) با  $\frac{1}{3}$  میزان شکر (ساکاروز) استاندارد و نصف میزان نیترات به همراه هورمون

### تشکر و قدردانی

این پژوهش در گروه تحقیقات زیست‌فناوری منابع طبیعی موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور انجام یافت. از همکاران گروه مذکور که در این پژوهش ما را یاری نمودند سپاسگزاریم.

در ریزازدیادی سیاه گینه به علت مشکل شیشه‌ای شدن، در تمامی تیمارهای محیط کشت به ناچار نیترات محیط کاهش یافت. در نتیجه ریشه‌زایی سیاه گینه با کاهش عناصر پرمصرف و مواد قندی محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی بررسی شد. بیشترین ریشه‌زایی (۴۵٪) از محیط کشت  $\frac{1}{3}$  MS (به استثنای ترکیبات آهن) با  $\frac{1}{3}$  میزان شکر (ساکاروز) استاندارد و نصف میزان نیترات به همراه هورمون

جدول ۳: میانگین مربعات اثر تیمارهای مختلف محیط کشت بر شاخه‌زایی، رشد طولی و متوسط طول جوانه سیاه گینه (*D. lessertii*)

صفات	درجه آزادی (df)	میانگین مجموع مربعات (MS)	F محاسبه شده	pr > F
شاخه زایی	۶	۴۰۶/۹۵	۸/۳۷	۰/۰۰۰۲
رشد طولی	۶	۹/۹۴	۳/۷۹	۰/۰۱۳۴
متوسط طول جوانه	۶	۱/۹۴	۴/۹۷	۰/۰۰۳۷

جدول ۴: مقایسه میانگین تیمارهای مختلف محیط کشت‌های (جدول ۱) بر شاخه‌زایی در ریزازدیادی سیاه گینه (*D. lessertii*) به روش دانکن

تعداد شاخه		حداکثر طول بلندترین شاخه (cm)		متوسط طول شاخه‌ها (cm)	
میانگین	محیط کشت	میانگین	محیط کشت	میانگین	محیط کشت
۳۰/۲۵۰ ab	۴	۱۰/۸۷۵ a	۳	۲/۲۱۷a	۳
۲۹/۰۰۰a	۲	۹/۱۲۵ab	۶	۰/۶۹۷b	۶
۲۶/۷۵۰a	۱	۷/۶۲۵b	۵	۰/۶۵۰b	۵
۲۳/۰۰۰a	۷	۷/۲۵۰b	۴	۰/۳۹۵b	۴
۱۰/۷۵۰b	۶	۷/۰۳۸b	۷	۰/۳۴۷b	۷
۱۰/۵۰۰b	۵	۶/۶۲۵b	۱	۰/۲۶۷b	۱
۶/۰۰۰b	۳	۶/۶۰۰b	۲	۰/۲۵۷b	۲

میانگین‌ها با حروف مشابه از نظر آماری در سطح (a= %۵) اختلاف معنی‌داری ندارند.

### منابع مورد استفاده

443.

11- Gupta, M. and J. Agrawal 1990; *In vitro* plantlet development from 15 years old explant of *P. euramericana* a hybrid poplar. Plant Science, 8: 99- 105.

12- Gohet, Ra. .1990; Direct shoot bud formation from leaf explants of seedlings and mature mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) trees. Plant Sci. 68: 113- 121.

13- Mapes, Mo. and J.B. Zaerr 1982. Multiplication *in vitro* du Douglas. Par induction precoce precoce d'un bourgeonnement adventif et exillaire in: colloque international sur la culture in vitro des essences forestieres, in vitro section, 520. 1,5 fontainebleau, Afocel, pp 109- 114.

14- Murashig, T. 1974; Plant propagation through tissue culture. Annu. Re. Plant Physiol, 25: 135- 166.

15- Rechinger, K.H. 1972; Flora Iranica. Akademische, Druck-U. verlagsanstalt, Graz, Austria, No. 95/1.12.

16- Sriskan, D., S. Skirrin and R.M. Abu-Qauoud 1990. The effect of some macronutrients on the adventitious root development on scion apple cultivars. *In vitro* Plant, Cell, Tissue and Organ Culture, 21:185-189

17- Yazdanparast, R., H. Sadeghi and D.L. Smith 2002; Isolation and structure elucidation of a new potent antineoplastic diterpene from *Dendrostellera lessertii*.

۱ - اخیانی، خدیجه. ۱۳۷۴، فلور ایران تیره مازریون، شماره ۱۵. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۲ - امام، میترا و علی جعفری مفیدآبادی. ۱۳۸۲، ریزازدیادی سفید پلت (*Populus caspica*). تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران (۹)، صفحه ۱۲۱-۱۱۳، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۳ - حاج نجاری، حسن، ۱۳۷۳، ریزازدیادی. مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع تهران، ایران.

۴ - جعفری مفیدآبادی، علی و سیدرضا طبائی عقدایی، ۱۳۸۰، بیوتکنولوژی گیاهی (روش‌ها و کاربردها). مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران.

۵ - زرگری، علی. ۱۳۶۹، گیاهان دارویی. جلد چهارم، چاپ و انتشارات دانشگاه تهران.

۶ - شاهمیر، فریبا. ۱۳۷۵، کشت اندام‌ها و بافت‌های گیاه Atriplex با هدف به‌نژادی و افزایش مقاومت به شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد.

۷ - صدیقی، محمدباقر. ۱۳۵۴، ارزش گیاهان دارویی از نظر احیاء طب سنتی ایران. سمینار بررسی مسائل پوشش گیاهی ایران، دانشگاه تهران.

۸ - کردوانی، پرویز. ۱۳۷۱. مراتع مسائل و راه‌حل‌های آن در ایران. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

9- Bonga, J.M. and P.V. Aderkas 1992; *In vitro* culture of trees. Kluwer Academic Publishers. pp.236.

10- Baraldi, R. 1988; *In vitro* shoot development of prunus GF- 655- 2: Interaction between light and benzylandenine. Physiol. Plant, 74:440-

