

بررسی فاکتورهای مؤثر در تکثیر سماق (*Rhus coriaria* L.) به روش *In vitro*

بهروز پورداد^۱، عباس صفرنژاد^{۲*}، محمدعلی ابراهیمی^۳ و غلامرضا بخشی خانیکی^۴

۱- کارشناس ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه پیام نور تهران

۲- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و مدیریت بیوتکنولوژی کشاورزی منطقه شرق و شمال شرق کشور، مشهد پست الکترونیک: sebre14@yahoo.com

۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور تهران

۴- استاد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه پیام نور تهران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۸

چکیده

سماق متعلق به تیره پسته (Anacardiaceae) و گونه خودروی جنس *Rhus* در ایران است که جوانه‌زنی بذر آن بسیار کم بوده و در طبیعت به صورت پاجوش تکثیر می‌گردد. در این تحقیق بهترین محیط کشت ریشه‌زایی و باززایی ریزنمونه‌های جوانه در گیاه سماق (*Rhus coriaria* L.) در شرایط این‌ویترو مورد بررسی قرار گرفت. القاء کالوس با استفاده از محیط کشت MS حاوی هورمون‌های TDZ, BAP, BA, IAA و IBA انجام شد. براساس نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌ها حداکثر القاء کالوس و باززایی به ترتیب روی محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA و یک میلی‌گرم در لیتر BA به دست آمد. برای تعیین بهترین محیط کشت ریشه‌زایی با ترکیب هورمونی مناسب از محیط‌های کشت MS به صورت کامل، نصف و یک‌چهارم به همراه هورمون‌های IAA و NAA, IBA و بدون هورمون استفاده شد. بیشترین میزان ریشه‌زایی در محیط کشت MS کامل با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA رخ داد. تفاوت معنی‌داری بین غلظت ۱ و ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA برای تعداد و طول ریشه مشاهده شد. در محیط کشت MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA تعداد ریشه افزایش (۳/۶ عدد) و طول آن کاهش یافت. همچنین، محیط کشت‌های جامد و مایع برای میزان ریشه‌زایی تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. البته بیشترین میزان ریشه‌زایی (۴۴/۸۳٪) روی محیط کشت جامد حاصل گردید.

واژه‌های کلیدی: سماق، کشت بافت، باززایی، ریشه‌زایی

مقدمه

سماق بر تعدادی از باکتری‌های روده‌ای مؤثر است (Fazeli et al., 2005). سماق از لحاظ اقتصادی، استفاده در مواد آرایشی، صنایع دارویی، مواد غذایی و فضای سبز اهمیت دارد (Bloschenko, 1996). این گیاه تکثیر رویشی گسترده‌ای داشته و کلن‌های مترامی را به صورت پاجوش ایجاد می‌نماید (Izhaki et al., 1992). بررسی جوانه‌زنی بذر آن تحت عوامل مختلف نظیر گرما، خاکستر، pH، پتانسیل آب و اتیلن نشان داد یک

سماق (*Rhus coriaria* L.) گیاهی از تیره Anacardiaceae می‌باشد که دارای ترکیبات شیمیایی مختلف مانند اسیدتانیک، تانن، دکستروز و میریستین است (Amin, 1991). در گذشته از سماق به عنوان قابض برای درمان اسهال، رفع خونریزی دهان و همچنین ضدعرق استفاده می‌شده است (Zargari, 1993). تحقیقات اخیر نشان داده است که عصاره پوست میوه

(جدول ۱) در ۵ تکرار که هر تکرار شامل ۶ ریزنمونه بود، مورد مطالعه قرار گرفت.

جدول ۱- محیط کشت MS مورد استفاده با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ترکیب هورمونی آن

محتوای هورمونی (mg l^{-1})	کد محیط
۱/۵ BA + ۰/۱ IAA	C
۰/۶۸ BAP + ۰/۰۱ IBA	F
۲ BA + ۰/۰۱ IBA	H
۴ TDZ	J
۱/۲۷ BAP + ۰/۰۱ IBA	K
۱ BA + ۰/۵ IAA	N

کالوس‌های باززایی شده حاصل از ترکیب‌های هورمونی N,H,K (جدول ۱) به محیط پایه MS با نسبت کامل، نصف و ۱/۴ به همراه هورمون‌های IBA (یک میلی‌گرم در لیتر و ۰/۵ میکرومولار)، IAA (۸ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۵۴ میکرومولار) انتقال یافته و میزان ریشه‌زایی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

کالوس‌های باززایی شده دارای ساقه و برگ به محیط کشت MS با ترکیب‌های هورمونی یک و ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA انتقال یافته و میزان ریشه‌زایی آنها مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۲).

کالوس‌های باززایی شده دارای ساقه و برگ به محیط کشت حاوی MS با یک میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA با مقادیر ۸ گرم آگار و بدون آگار (حاوی کاغذ صافی به‌عنوان تکیه‌گاه) انتقال یافته و اثر آگار بر ریشه‌زایی آنها مورد بررسی قرار گرفت.

این آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه طرح پایه بلوک کامل تصادفی با ۵ تکرار (۶ نمونه در تکرار) برای ایجاد کالوس، باززایی و ریشه‌زایی و ۳ تکرار برای ریشه‌زایی و ۳ تکرار برای اثر آگار بر ریشه‌زایی اجرا گردید و تجزیه داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS انجام شد. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن دسته‌بندی شدند.

پیش‌حرارت ۱۲۰ تا ۱۴۰ درجه به مدت ۱۵ دقیقه باعث افزایش جوانه‌زنی بذرها می‌شود (Neeman *et al.*, 1999). بذرها را سماق در رویشگاه‌های طبیعی در رشته‌کوه‌های بینالود خراسان فاقد قوه نامیه بوده و با ترکیب هورمونی مختلف نیز قادر به جوانه‌زنی نشده است (Darroudi *et al.*, 2010). در زمینه تکثیر گیاه سماق با استفاده از روش‌های کشت بافت اطلاعات کمی وجود دارد. در کشت بافت پسته بیشترین شاخه‌زایی روی محیط MS حاوی ۸/۸ میکرومولار BA اتفاق افتاده است (Oney, 2000). در ضمن Tilkat و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه روی تکثیر درون شیشه‌ای پسته بیشترین پرآوری را در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BA مشاهده کردند. در تحقیقی نشان داده شد که محیط ۱/۲ DKW همراه با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA برای القاء و رشد جوانه‌های جانبی پسته مناسب بود. در محیط ۱/۲ WPM همراه با ۳ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین ریشه‌زایی مشاهده شد (Minghao *et al.*, 2011).

هدف از این تحقیق تعیین بهترین محیط کشت جهت القاء کالوس، باززایی و ریشه‌زایی سماق به‌منظور تکثیر آسان‌تر آن از طریق این‌ویترو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

سرشاخه‌های گیاه سماق از رویشگاه طبیعی آن از بخش کاخک گناباد تهیه گردید. به‌منظور تهیه ریزنمونه، بخش‌های انتهایی سرشاخه‌های درخت را به طول ۳ تا ۴ سانتی‌متر تقسیم کرده و شاخه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در آب جاری قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در کلریدجیوه ۰/۰۲٪ به مدت ۳ دقیقه و در مرحله بعدی آنها را به مدت ۲ دقیقه در محلول اتانول ۷۰٪ قرار داده و در آخرین مرحله نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در وایتکس ۳۰٪ قرار داده شدند. بعد از ضدعفونی، نمونه‌ها روی محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1962) حاوی غلظت‌های مختلف هورمونی کشت و به اتفاق رشد منتقل شدند و در انتهای هر دوره یادداشت‌برداری‌های لازم انجام شد. در این آزمون با هدف تولید کالوس و گیاهچه، تعداد ۶ ترکیب هورمونی با نوع و غلظت‌های مختلف هورمونی

جدول ۲- محیط‌های کشت استفاده شده حاوی ۸ گرم در لیتر آگار و ترکیب‌های هورمونی آن برای ریشه‌زایی

شماره محیط کشت	محیط پایه	ساکارز (gl ⁻¹)	محتوای هورمونی
۱	یک چهارم MS	۷/۵	-
۲	نصف MS	۱۵	۰/۵ IBA μM
۳	نصف MS	۱۵	۸ IAA mg/l
۴	نصف MS	۱۵	۰/۵۴ NAA μM
۵	کامل MS	۳۰	۱ IBA mg/l

نتایج

(جدول ۱) روی باززایی ریزنمونه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج به دست آمده بالاترین میزان باززایی در محیط N (جدول ۱) و کمترین آن مربوط به محیط C (جدول ۱) مشاهده شد که به ترتیب ۲۷/۸٪ و صفر درصد باززایی داشتند (شکل ۱). در محیط‌های کشت از نظر میزان باززایی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳ و ۴). البته در محیط‌های حاوی TDZ (۴ میلی‌گرم در لیتر)، BA (با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و BAP (با غلظت ۰/۶۸ میلی‌گرم در لیتر) تولید گیاهچه مشاهده نگردید.

۱) اثر محیط کشت بر القاء کالوس و باززایی
با توجه به نتایج به دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها بین محیط‌های کشت القاء کالوس تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۳). از ۶ محیط کشت، ۵ محیط تولید کالوس نموده و یک محیط هیچگونه کالوسی تولید نکرد. البته بیشترین میزان القاء کالوس (۳۲٪) روی محیط N انجام شد، در حالی که روی محیط C هیچگونه کالوسی القاء نگردید (جدول ۴).
در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلفی از هورمون‌ها

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس تیمارهای مختلف هورمونی در کالوس‌زایی و باززایی سماق

منابع تغییر	درجه آزادی	کالوس‌زایی	باززایی
تیمار	۵	۶۶۳/۱۷**	۷۰۰/۲۸**
خطا	۲۳	۱۴/۶۹	۳/۴۲
CV		۲۱/۳۷	۱۷/۹۵

* و **: اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱٪

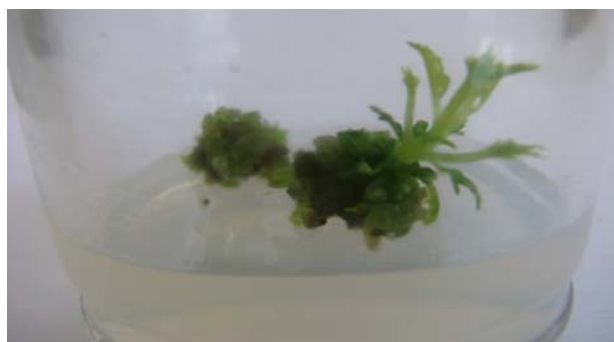
جدول ۴- مقایسه میانگین ترکیب‌های هورمونی کالوس‌زایی و باززایی با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪

تیمار	C	J	F	H	K	N
کالوس‌زایی	۰d	۸c	۱۶b	۲۰b	۲۸a	۳۲a
باززایی	۰c	۰c	۱۲b	۲۰a	۲۰a	۲۷/۸a

میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان می‌باشند در سطح ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

۲) اثر محیط کشت بر ریشه‌زایی

الف) اثر محیط کشت و هورمون بر ریشه‌زایی
تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین انواع محیط کشت ریشه‌زایی، اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۵). محیط کشت شماره ۵ (جدول ۲) با ۴۴/۵٪ تولید ریشه، بیشترین و بهترین ریشه‌زایی را داشت (شکل ۲) و محیط شماره ۳ (جدول ۲) با ۲/۶۷٪ کمترین تولید ریشه را داشت (جدول ۶).



شکل ۱- باززایی غیرمستقیم گیاه سماق

جدول ۵- تجزیه واریانس میزان ریشه‌زایی سماق تحت تیمارهای مختلف محیط‌های کشت

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات
محیط کشت	۱۴	۱۱۹۵/۳*
اشتباه	۳۰	۲/۹۳
کل	۴۴	

*: اختلاف معنی‌دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ دارند.

جدول ۶- مقایسه میانگین ترکیب‌های هورمونی ریشه‌زایی با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵٪

						تیمار
C	J	F	H	K	N	صفات
۰c	۰c	۰c	۴b	۸b	۱۶a	ریشه‌زایی

میانگین‌هایی که دارای حروف یکسان می‌باشند در سطح ۵٪ آزمون دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۲- ریشه‌زایی گیاه سماق

ب) اثر نوع ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی

محاسبات آماری نشان داد که بین انواع ترکیب‌های هورمونی اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($p \leq 0/5$). به‌طوری‌که بیشترین درصد ریشه‌زایی در سماق را ترکیب‌های هورمونی N (جدول ۱) به میزان ۲۶/۰۶ و کمترین درصد تولید ریشه را ترکیب هورمونی H (جدول ۱) با ۷/۶٪ داشت.

د) اثر آگار بر ریشه‌زایی

بیشترین درصد تولید ریشه در محیط‌کشت جامد با تولید ۴۴/۸۳٪ حاصل شد. محیط‌کشت مایع با تولید ۴/۵٪ ریشه کمترین درصد ریشه‌زایی را داشت و محیط‌کشت مایع با تکیه‌گاه کاغذ صافی ۸/۵٪ ریشه تولید نمود.

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط‌های کشت و

ترکیب‌های هورمونی (جدول ۲) بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های سماق

میانگین ریشه‌زایی	ترکیب هورمونی	محیط
	کالوس‌زایی	ریشه‌زایی
۱	H	$3/66 \pm 0/29$
	K	$3 \pm 0/57$
	N	$9/33 \pm 0/49$
۲	H	$4/66 \pm 0/96$
	K	$6 \pm 0/4$
	N	$12 \pm 0/57$
۳	H	۰
	K	۰
	N	$8 \pm 0/35$
۴	H	$12/66 \pm 0/9$
	K	۰
	N	$28/33 \pm 0/38$
۵	H	$17 \pm 0/48$
	K	$44 \pm 0/3$
	N	$72/66 \pm 0/35$

بحث

۱) اثر محیط کشت بر القاء کالوس و باززایی

در القاء کالوس، مهمترین عوامل تأثیرگذار ترکیب هورمونی محیط‌کشت و مقادیر آنها می‌باشد (Karimi et al., 2010). در این زمینه ترکیبات اکسین و میزان آن نقش مهمی دارند. به‌طورکلی میزان نیاز اکسین برای تشکیل کالوس ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد (Biramizadeh & Azadi, 2007). برخی گیاهان به مقادیر بسیار بالاتری از هورمون اکسین برای تشکیل کالوس نیاز دارند. در این زمینه Sreelatha و همکاران (۱۹۹۴) BA را در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر برای کالوس‌زایی مطلوب دانسته‌اند. در مطالعه‌ای بر روی گیاه مرتعی *Aeluropus* مشخص شد که بیشترین فراوانی تشکیل کالوس در ترکیب هورمونی با مقادیر ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین و سیتوکینین (BAP) به‌دست می‌آید (Razavi et al., 2002). براساس مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۰) بر روی کاکتوس *Cereus peruvianus* بهترین ترکیب هورمونی برای تولید کالوس ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۰۷ میلی‌گرم در لیتر TDZ بود. در این پژوهش بر خلاف آنچه که ذکر گردید که جهت کالوس‌زایی به میزان ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر اکسین مورد نیاز است، با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر اکسین، بالاترین کالوس‌زایی مشاهده شد. همچنین، در این پژوهش برخلاف نتایج مطالعات Razavi و همکاران (۲۰۰۲) که نسبت اکسین به سیتوکینین را جهت

ج) اثر متقابل انواع ترکیب‌های هورمونی و محیط‌ها بر ریشه‌زایی

بررسی اثر متقابل محیط‌های ریشه‌زایی با انواع ترکیب‌های هورمونی بر میزان ریشه‌زایی نشان داد که بین انواع ترکیب‌های هورمونی اختلاف معنی‌داری وجود داشت. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ترکیب هورمونی N (جدول ۱) با تولید ۷۲/۶۶٪ ریشه، دارای بیشترین درصد ریشه‌زایی

۲) اثر محیط کشت بر ریشه‌زایی

با توجه به نتایج ریشه‌زایی ریزنمونه‌های سماق می‌توان نتیجه گرفت که بهترین ترکیب هورمونی جهت ریزنمونه‌های سماق، ترکیب نزدیک به هم سیتوکینین و اکسین می‌باشد. با افزایش غلظت NAA تمایز ریشه تحریک می‌شود اما غلظت‌های بالاتر اثر بازدارنده دارد (Padashtdehkani et al., 2008). تحریک رشد شاخساره یکی از نقش‌های مهم سیتوکینین‌ها می‌باشد. در بررسی این ویترو ژیرا مشخص شد که محیط حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین تعداد ریشه را داشته و محیط کشت فاقد تنظیم‌کننده و نیز محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر NAA کمترین تعداد ریشه را داشت (Tatari et al., 2009). نتایج به‌دست آمده نشان داد که حضور IBA به‌طور مداوم در محیط کشت و نیز افزایش غلظت آن می‌تواند به‌عنوان یک بازدارنده برای ریشه‌زایی محسوب شود. در ریشه‌زایی، اکسین‌ها به سیتوکینین‌ها برتری دارند که در این پژوهش نیز محیط هورمونی N که بالاترین میزان اکسین را دارد بهترین ریشه‌زایی را داشت. در این پژوهش غلظت بیشتر سیتوکینین به اکسین باعث ریشه‌زایی گردید. در این پژوهش شاخساره‌های سماق در محیط MS با ترکیب هورمونی سیتوکینین ۲ برابر اکسین قادر به ریشه‌زایی بودند و غلظت سیتوکینین یک میلی‌گرم در لیتر انتخاب شد. القاء ریشه توسط اکسین‌ها پاسخ متعارفی است که در مدت زمان نسبتاً کوتاهی در حضور هر دو هورمون IBA و NAA انجام شد. گزارش شد که شاخه‌های پسته در محیط MS همراه با ۱۲/۳ میکرومولار IBA ریشه‌دار شدند. همچنین Emam و همکاران (۲۰۱۰)، در کشت بافت اکالیپتوس گزارش کردند که ریشه‌زایی با هورمون‌های IBA و NAA هریک به‌میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه را داد. بیشترین ریشه‌زایی در تکثیر درون شیشه‌ای درخت مقاوم به خشکی تا (*Celtis caucasica*) در ۰/۵ mg/l NAA انجام شده است که با یافته‌های این مطالعه هم‌خوانی ندارد (Dadvar et al, 2013). در کشت بافت کنار توسط Ahmadi و همکاران (۲۰۱۲) بیشترین ریشه‌زایی در محیط ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد که نتایج این تحقیق را تأیید می‌کند. همچنین در تکثیر درون شیشه‌ای درخت جنگلی و دارویی تیس

کالوس‌زایی ۲ به‌دست آورده‌اند، این نسبت برای بهترین کالوس‌زایی جوانه‌های سماق ۰/۵ بود که تقریباً به مطالعه Karimi و همکاران (۲۰۱۰) که این نسبت را ۰/۷ به‌دست آورده‌اند، نزدیک بود. نتایج نشان داد که نسبت سیتوکینین به اکسین تأثیر زیادی در میزان کالوس‌زایی دارد. مقایسه محیط‌های هورمونی مشخص کرد که نسبت بیشتر سیتوکینین به اکسین باعث افزایش کالوس‌زایی در ریزنمونه‌های سماق می‌گردد.

از بین محیط‌های هورمونی مورد استفاده برای باززایی، محیط N (جدول ۱) بهترین محیط برای باززایی ریزنمونه‌های سماق بود. با توجه به نتایجی که به‌دست آمد بهترین ترکیب هورمونی برای باززایی سماق، ترکیب نزدیک به هم سیتوکینین و اکسین بود، به‌طوری‌که غلظت سیتوکینین بین ۱ تا ۱/۲۷ میلی‌گرم در لیتر بود. سیتوکینین در غلظت‌های ۱ تا حدود ۱/۲۷ و ۲ میلی‌گرم در لیتر قادر به باززایی و تولید ساقه و برگ بود ولی در غلظت‌های زیر ۱، بین ۱/۲۷ تا ۱/۵ و ۴ میلی‌گرم در لیتر کالوس‌ها قادر به باززایی و ادامه رشد نبودند. البته هرچه اختلاف نسبت سیتوکینین به اکسین بیشتر شد درصد باززایی کاهش یافت. در این خصوص Ahmadi و همکاران (۲۰۱۲) در کشت بافت کنار نشان دادند که بیشترین شاخه‌زایی در محیط MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر kin به‌دست آمد. همچنین Cetiner و همکاران (۲۰۰۲) در پسته حداکثر رشد شاخه در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP در محیط MS را نشان دادند. در این پژوهش نسبت اکسین به سیتوکینین جهت باززایی ۰/۵ به‌دست آمد. این پژوهش با مطالعه Cetiner و همکاران (۲۰۰۲) همخوانی نداشته و به نظر می‌رسد جهت شاخساره‌زایی جوانه‌های سماق نسبت سیتوکینین باید از اکسین بیشتر باشد و غلظت سیتوکینین یک میلی‌گرم در لیتر انتخاب شود. در تحقیقی روی تکثیر درون شیشه‌ای پسته Tilkat و همکاران (۲۰۰۹) بیشترین پرآوری را در محیط MS حاوی ۴/۴ میکرومولار BA مشاهده کردند که با یافته‌های این مطالعه مغایرت دارد. همچنین تکثیر درون شیشه‌ای درخت مقاوم به خشکی تا (*Celtis caucasica*) مورد بررسی قرار گرفته و ۰/۵ mg/l BAP و ۰/۵ mg/l 2ip برای استقرار و شاخه‌زایی مناسب بوده است (Dadvar et al, 2013).

- Amin, Gh., 1991. Traditional Medicinal Plants of Iran. Tehran Medical University Press, 300.
- Bagheri, A., 2008. Basic Plant Tissue Culture. Mashhad Ferdowsi University Press, 406.
- Benmahioul, B., Kaid-Harche, M., Dorion, N., and Daguin, F., 2009. *In vitro* embryo germination and proliferation of pistachio (*Pistacia vera* L.). Scientia Horticulturae, 122: 479-483.
- Biramizadeh, A., and Azadi, P., 2007. Effect of plant growth regulators on *Anthorium* proliferation. Pajohesh and Sazandegi, 76:180-184.
- Bloshenko, E.K.L., 1996. Characterization of natural distribution and some biological traits of sumach (*Rhus coriaria*) in central Asia. Acta Hort (ISHS), 426:113-122.
- Cetiner, S., Yücelm H., Aka-Kaçar, Y., and Yalçin-Mendi, Y., 2002. Clonal propagation of *Pistacia* rootstocks by meristem and shoot culture. ISHS Acta Horticulturae, 441: V Temperate Zone Fruit in the Tropics and Subtropics.
- Dadvar, F., Rostami, T., Assare, M.H., Emam, M., and Shirvany, A., 2013. Effects of different concentrations of plant regulators on *In vitro* micropagation of *Celtis caucasica*. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 21: 13-23.
- Darroudi, H., Akbarinia, M., Jalali, S.G.H.A., and Khosrojerdi, E., 2010. Effect of some forest physiographic elements on characteristic of sumac growth in neyshabour. Iranian Journal of Biology, 23:287-298.
- Emam, M., Assareh, M.H., Shahrzad, S., and Khojin, K., 2010. *In vitro* multiplication of mature *eucalyptus grandis* trees. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 18:35-44.
- Emam, M., Ghamari-Zare, A., Espahbodi, K., Naraghi, T.S., and Shahrzad, S.H., 2012. Micropropagation of forest tree of *sorbus aucuparia* by bud culture of mature plants. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 19: 263-273.
- Fazeli, M., Ashtiyani, H., Ahmadian Attari, M.M., Jamalifar, H., and Zahedi, A., 2005. Investigation on antibacterial effects of sumac total extract on skin. Journal of Medicinal Plants, 5:27-31.
- Izhaki, I., Lahaw, H., and Neeman, G., 1992. Spatial distribution patterns of *Rhus coriaria* seedlings after fire in a Mediterranean pine forest. Acta Ecology, 13: 279-789.
- Kamaladini, H., 2006. Plant Biotechnology, Basic laboratory methods. Golbon Publisher, 238.
- Karimi, N., Naderi, R., Ebrahimi, M., and Mofid, M.R., 2010. Micropropagation of *Cereus peruvianus* Mill. by using tissue culture methods. Journal of Medicinal Plants, 2:38-45.
- Minghao, L., Jinyan, H., Qian, A., Pingping, Z., Mingli, T., and Lifang, W., 2011. Regeneration and Rapid Propagation from Stem Explants of *Pistacia Chinesis* Bunge. International Conference on Agricultural and Natural Resources Engineering Advanced in Biomedical Engineering, vol. 3-5. 112-118.

بیشترین ریشه‌زایی در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA انجام شد (Emam *et al.*, 2012).

به‌منظور شروع به ریشه‌زایی حضور اکسین در محیط نیاز است ولی برای افزایش طول ریشه در بیشتر موارد نیازی به حضور اکسین نمی‌باشد. براساس نتایج به‌دست آمده در این پژوهش به دلیل آنکه به‌طور مداوم اکسین در محیط وجود دارد، با افزایش غلظت IBA تعداد ریشه افزایش، ولی طول آن کاهش یافت.

اثر آگار بر ریشه‌زایی

بیشترین درصد تولید ریشه در محیط‌کشت جامد با تولید ۴۴/۸۳٪ حاصل شد. آگار تشکیل ژل داده که توانایی جذب مواد را دارد (Kamaladini, 2006) و در حذف مواد زائد سلولی از محیط‌کشت به روشی مشابه زغال فعال عمل می‌کند. کاهش ریشه‌زایی در محیط مایع به‌علت غرقاب شدن شاخساره در محیط و عدم هوادهی مطلوب به آن می‌باشد، به‌طوری‌که در این پژوهش مشاهده گردید. در محیط مایع با تکیه‌گاه کاغذ صافی، ریشه‌زایی بیشتری نسبت به محیط مایع اتفاق افتاد. محیط مایع می‌تواند باعث نوعی اختلال فیزیولوژیک، تحت عنوان شیشه‌ای شدن شود که چنین حالتی هنگامی اتفاق می‌افتد که محیط‌کشت گیاه دارای آب زیاد است. البته افزایش غلظت آگار برای جلوگیری از شیشه‌ای شدن مناسب است (Bagheri, 2008). به‌طورکلی براساس این پژوهش توصیه می‌شود برای کشت‌بافت سماق از ریزنمونه جوانه آن جهت القاء کالوس و باززایی برای تولید شاخساره استفاده شود. در این مطالعه بهترین محیط کالوس‌زایی معرفی گردید که می‌تواند در مطالعات متابولیت‌های ثانویه مورد بهره‌برداری قرار گیرد. همچنین نتایج این تحقیق علاوه بر امکان مطالعات فیزیولوژی می‌تواند در حفظ ذخایر ژنتیکی و نگهداری ژرم‌پلاسما سماق برای مدت طولانی به‌وسیله روش Cryopreservation مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- Ahmadi, E., Hosseini Nasr, S.M., Jalilvand H., and Salehian Aghblaq, H., 2012. *In vitro* somatic propagation of *ziziphus spina christti* (L.) willd via indirect regeneration from leaf explants. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20: 111-123.

- Investigation of different methods on propagation of two rangelands variety of *Aeluropus* in controlled condition. Iranian Journal of Biology, 18:60-68.
- Sreelatha, U., Nair, SR., Rajmohan, K., and Ramachandran, N.S., 1994. *In vitro* multiple shoot formation in anthurium. (*Anthurium andraeanum* Lind) South Indian Horticulture, 42:348-352.
 - Tatari vernosefadrani, M., Askari Raberi, N., and Nosrati, S.Z., 2009. *In vitro* optimization of Gerbera. Journal of Seed and Plant, 2(4):389-401.
 - Tilkat, E., Onay, A., and Özden Tokatli Y., 2009. *In vitro* rooting improvement of adult pistachio, *pistachia vera* L. "atli". Acta Horticulturae. 839:215-222.
 - Zargari, A., 1993. Medicinal Plants. Tehran University Press, Tehran, 942p.
 - Murashige, T., and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15:437-497.
 - Neeman, G., Hening-Sever, N., and Eshel, A., 1999. Regulation of the germination of *Rhus coriaria*. A post-fire pioneer, by heat, ash, pH, water potential and ethylene. Physiologia Plantarum, 106:47-52.
 - Oney, A., 2000. Micropropagation of pistachio from mature trees. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 60: 159-163.
 - Padashtdehkani, M.N., Khalighi, A., Naderi, R., and Musavi, A., 2008. Effect of different concentrations of BA and NAA on *Lilium ledebourii* regeneration. Journal of Seed and Plant, 24: 321-332.
 - Razavi, Kh., Malbobi, M.A., Farahi Ashtiyani, S., Ghanati, F., and Mohsenzadeh, S., 2002.

Investigation of effective factors on sumac *In vitro* propagation

B. Poordad¹, A. Safarnejad^{*2}, M. A. Ebrahimi³ and Gh. Bakhshi Khaniki⁴

1- M.Sc., Agricultural Biotechnology, Payame Noor University of Tehran, I.R. Iran.

2*- Corresponding author, Asso. Prof., Management of Agricultural Biotechnology in the East and North East, Mashhad, I.R.Iran.
Email: Sebre14@yahoo.com.

3- Assis. Prof. of Biotechnology Department of Payame Noor University of Tehran, I.R. Iran.

4- Prof., Biotechnology Department of Payame Noor University of Tehran, I.R. Iran.

Received: 02.12. 2013

Accepted: 09.03. 2014

Abstract

Sumac belongs to genus of *Rhus* (*Anacardiaceae*). Seed germination in the species is very low and it is naturally propagated through tillering. The best media for *In vitro* regeneration and rooting of sumac was investigated in this research. Buds were sterilized and transferred to callus induction media. Callus induction was initiated on MS basal media supplemented with IAA, BA, BAP, TDZ, IBA. Results indicated that the most callus induction and regeneration occurred on MS supplemented with 1 mg l⁻¹ BA + 0.5 mg l⁻¹ IAA. Half, quarter and full strength MS medium supplemented with IAA, NAA, IBA were used for rooting. Results showed significant differences between the rooting treatments. The most rooting percentage was observed on full strength MS medium supplemented with 1 mg/l IBA. The best treatment for rooting was 1 mg/l BA + 0.5 mg/l IAA. There were significant differences between IBA concentration for length and number of root. With 5 mg/l IBA concentration, number of root increased and root length decreased. Also, there were significant differences between liquid and solid media for rooting, so that the highest rooting percentage (44.83%) was observed on solid media.

Key words: *Rhus coriaria* L, Tissue culture, Regeneration, Rooting.