زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال هفتم، شماره بیست و چهارم، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۶۷-۷۶
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۰۳/۱۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۳/۰۷/۱۴
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۳/۰۹/۱۱
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۱/۱۳

تأثیر منشأ ریزنمونه و تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف بر ریزازدیادی پسته وحشی (*Pistacia atlantica* ssp. *mutica*)

زینب صفری، علی‌اشرف مهرابی * و علی آرمینیان
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

چکیده

تکثیر پسته وحشی به عنوان یک گونه چوبی چند منظوره، امری دشوار و زمان‌بر است. در پژوهش حاضر، یک روش آزمایشگاهی مؤثر برای تکثیر سریع پسته وحشی (*Pistacia atlantica* ssp. *mutica*) در محیط کشت MS غنی شده با ویتامین‌های B5 و تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف توسعه داده شد. ریشه‌زایی ریزقلمه‌ها با دو تیمار ریزوپون (Rhizopon) و ایندول ۳- بوتیریک اسید (IBA) در شرایط خارج از آزمایشگاه بررسی گردید. با توجه به نتایج، ریزنمونه قطعات گرهی، بیشترین تعداد ساقه، تعداد برگ و بلندترین ساقه‌ها را تولید نمود. از سوی دیگر، بلندترین شاخه‌ها از ریزنمونه مریستم انتهایی و محیط کشت تی‌دیازورون (TDZ) در ترکیب با ایندول ۳- استیک اسید (IAA) ایجاد شدند. تیمارهای ریشه‌زایی (ریزوپون و IBA) موجب افزایش چشمگیر تعداد ریشه‌ها، طول ریشه و درصد ریشه‌زایی نسبت به تیمار شاهد شدند. این نتایج می‌تواند برای تکثیر سریع و گسترش سریع درختان و درختچه‌های پسته که سخت و زمان‌بر است، استفاده شود.

واژه‌های کلیدی: باززایی، پسته وحشی (*Pistacia atlantica* spp. *mutica*)، تنظیم‌کننده رشد، ریزنمونه

مقدمه

گونه‌های جنس پسته متعلق به تیره Anacardiaceae، به طور وسیعی در مناطق خاورمیانه رویش دارند. پسته وحشی یا بنه (*Pistacia atlantica* ssp. *mutica*) درختی دو پایه و سازگار با آب و هوای خشک است (Arefi *et al*., 2007). درختان بنه واقع در جنگل‌های زاگرس، به دلیل داشتن ارزش‌های متعدد زیست‌محیطی و اقتصادی بودن صمغ و بذر دارای اهمیت ویژه‌ای هستند. بنه دارای صمغ با ارزشی به نام سقز است که در مصارف مختلفِ دارویی، صنعتی و خوراکی نقش دارد (Jahanbazy-Gojani *et al*., 2006; 2012). اما عوامل متعددی از جمله: قطع درخت، چرای دام و بهره‌برداری بی‌رویه از میوه و شیرابه درختان بنه، رشد و تجدید حیات این گونه با ارزش را تهدید می‌نماید (Negahdar-Saber

*نویسنده مسؤول: نشانی پست الکترونیک: a.mehrabi@mail.ilam.ac.ir، شماره تماس: ۰۸۴۳۲۲۲۷۰۱۵

Archive of SID
www.SID.ir

.and Abbasi, 2010)

تکثیر بنه از طریق بذر با مشکلاتی از قبیلِ تولید میوه‌های پوک مواجه است. همچنین با توجه به دگرگشن بودن این گونه‌ها، در نتاج حاصل از تکثیر جنسی تفرق صفات حاصل شده و نهال‌های حاصله از نظر ویژگی‌های ژنتیکی تغییر می‌یابند. بنابراین، از چند دهه پیش استفاه از تکثیر غیرجنسی برای توسعه باغات و گونه‌های درختی توصیه شده است. اما با توجه به این که تکثیر و ریشه‌زایی درختان بنه نسبت به گونه‌های درختی دیگر بسیار مشکل است (Onay, 2000; 2003) و همچنین با توجه به محدودیت منابع آب و خاک، استفاده از روش‌های درون شیشه‌ای و ریزازدیادی به منظور تکثیر انبوه و عاری از عوامل بیماری‌زا در مقیاس وسیع، به ویژه برای گونه‌های نر عقیم و ناسازگار، یا گیاهانی که ازدیاد غیرجنسی آنها با روش‌های معمول غیرممکن یا مشکل است، ارزشمند و امری ضروری به نظر می‌رسد (Akbari-Khabbaz 2007؛ Rajabpoor *et al.*, 2011). به طور کلی، هدف از ریزازدیادی، تکثیر انبوه و عاری از عوامل بیماری‌زا از یک گیاه در زمانی معین، در مقیاس وسیع و در عین حال ایجاد مجموعه‌ای از گیاهان با ویژگی‌های ژنتیکی یکسان و با صفات کمی و کیفی مورد نظر است (Modarres *et al.*, 2012).

نخستین تلاش‌ها برای تکثیر آزمایشگاهی و ریزازدیادی گونه‌های پسته توسط Barghchi (۱۹۸۲) انجام شد. سپس، استفاده از روش‌های کشت بافت به عنوان جایگزینی برای روش‌های سنتی به طور چشمگیر افزایش یافت. در بیشتر مطالعات انجام شده روی پسته، از ریزنمونه‌های جوان و رشد یافته در گلخانه برای استقرار کشت‌های آزمایشگاهی استفاده شده است (Barghchi and Alderson, 1985؛ Parfitt and Almehdi, 1994؛ Ozden-Tokatli, 2004; 2006). در پژوهش حاضر، ریزازدیادی سریع پسته وحشی از روش‌های کشت بافت بررسی شده است.

مواد و روش‌ها

بذرهای بالغ بنه جمع‌آوری شده از رویشگاه‌های طبیعی استان ایلام پس از حذف پوسته بیرونی (پریکارپ) در گلدان‌های محتوی خاک و ماسه با نسبت ۱:۱ کاشته شدند. گیاهچه‌های جوان به مدت ۱۵ دقیقه با آب معمولی، ۱۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم (یک درصد) و در نهایت سه بار با آب مقطر شستشو، ضدعفونی و گندزدایی شدند. دو نوع ریزنمونه شامل: مریستم نوک شاخساره (مریستم انتهایی) و قطعات گره (مریستم جوانه جانبی) از گیاهچه‌های ضدعفونی شده تهیه شد و درون لوله‌های آزمایش استریل حاوی ۱۵ تا ۲۰ میلی‌لیتر محیط کشت MS (Murashige and Skoog, 1962) تکمیل شده با ویتامین‌های B5 (Gamborg *et al.*, 1968)، تنظیم‌کننده‌های رشد ۶- بنزیل آمینوپورین (BAP) و تی‌دیازورون (TDZ) هر کدام ۲ میلی‌گرم در لیتر و ترکیب هر یک از آنها با ایندول ۳- استیک اسید (IAA) با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر، ۳ درصد سوکروز، ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر کازئین هیدولیزات، ۰/۷درصد آگار و ۰/۳ درصد زغال فعال مستقر شدند. اسیدیته محیط کشت روی ۵/۸ تنظیم شد. لوله‌های آزمایش توسط پنبه و فویل آلومینیوم استریل مسدود و در اتاقک رشد با دوره نوری ۱۶:۸ (L:D)، شدت نور برابر با ۴۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه و دمای ۱±۲۵ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

Archive of SID

www.SID.ir

ریزشاخه‌های باززا شده برای زدودن کاملِ بقایای آگار، با آب معمولی شسته و انتهای آنها با احتیاط خراشیده شد، سپس در تیمارهای مختلفِ شاهد، پودر ریزوپون (یک درصد) و محلول ایندول ۳- بوتیریک اسید (IBA) با غلظت ۱ گرم در لیتر فرو برده شدند. گیاهچه‌ها به گلدان‌های کوچک حاوی مخلوط استریل خاک، ورمی‌کولیت و پرلیت (۱:۱:۱) منتقل شدند و به منظور ایجاد شرایط رطوبتی بالا توسط درپوش‌های شفاف پوشانده و در شرایط نور غیرمستقیم نگهداری شدند.

تحلیل آماری: صفات تعداد و طول شاخه، تعداد برگ، تعداد و طول ریشه و درصد ریشه‌زایی اندازه‌گیری شدند و داده‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار بررسی شدند. تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۲ و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

هشت روز پس از استقرار کشت‌های شاخه‌زایی، تکثیر ریزنمونه‌ها آغاز شد (شکل ۱- A تا D). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین ریزنمونه‌های مختلف برای تمامی صفات بررسی شده تفاوت معنی‌دار وجود دارد. از سوی دیگر، محیط کشت‌های مختلف و همچنین اثر متقابل آنها با انواع ریزنمونه‌ها، تنها برای صفت طول شاخه اختلاف معنی‌دار داشت (جدول ۱).

بر اساس نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین تیمارهای مورد بررسی، ریزنمونه قطعات گرهی برای تمامی صفات ارزیابی شده بالاترین مقادیر را تولید کرد (شکل ۲). از سوی دیگر، محیط کشت حاوی TDZ+IAA به عنوان بهترین محیط کشت برتی تولید بلندترین شاخه‌های تولید شده از ریزنمونه مریستم انتهایی در مقایسه با سایر ترکیبات هورمونی شناخته شد (شکل ۳).

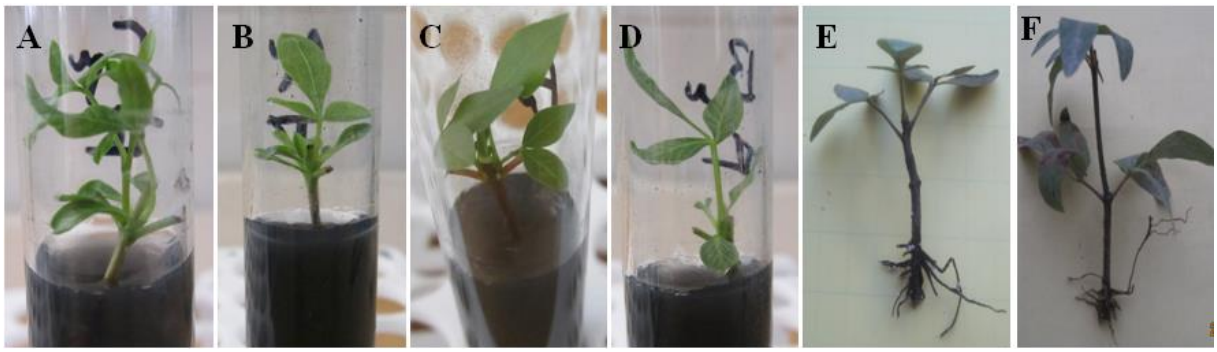
نتایج تجزیه واریانس نشان دهنده عدم وجود تفاوت معنی‌دار بین محیط کشت‌های بررسی شده برای صفات تعداد شاخه و برگ بود. مطابق این نتایج، افزودن IAA به هورمون‌های بررسی شده هیچ گونه تأثیر مثبت یا منفی بر این صفات نداشت (جدول ۱).

با توجه به تجزیه واریانس برهم‌کنش تیمارهای مورد بررسی، کمترین مقادیر برای صفت طول شاخه مربوط به استفاده از TDZ و ریزنمونه مریستم انتهایی بود و افزودنِ IAA به این تنظیم کننده، تأثیر چشمگیری بر بهبود طول شاخه‌های تولید شده از این ریزنمونه داشت. به طوری که برهم‌کنش ریزنمونه‌ها و تنظیم‌کننده‌های مختلف برای صفت طول شاخه دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بود و بلندترین شاخه‌ها با طول ۱۳ میلی‌متر با استفاده از ریزنمونه مریستم انتهایی و در محیط کشت حاوی TDZ+IAA تولید شدند. اما در مورد ریزنمونه قطعات گرهی این روند صادق نبود (جدول ۱، شکل ۳).

نخستین ریشه‌ها ۱۲ روز پس از آغاز آزمایش پدیدار شدند (شکل ۱- E تا F). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای IBA و ریزوپون برای هیچ کدام از صفات اندازه‌گیری شده مشاهده نشد. به طوری که هر دو تیمار در مقایسه با تیمار شاهد، تأثیر مطلوبی بر ریشه‌زایی داشتند، به نحوی که استفاده از پودر ریزوپون و محلول IBA به ترتیب موجب ۹۰ و ۶۰ درصد ریشه‌زایی شد (شکل ۴).

Archive of SID

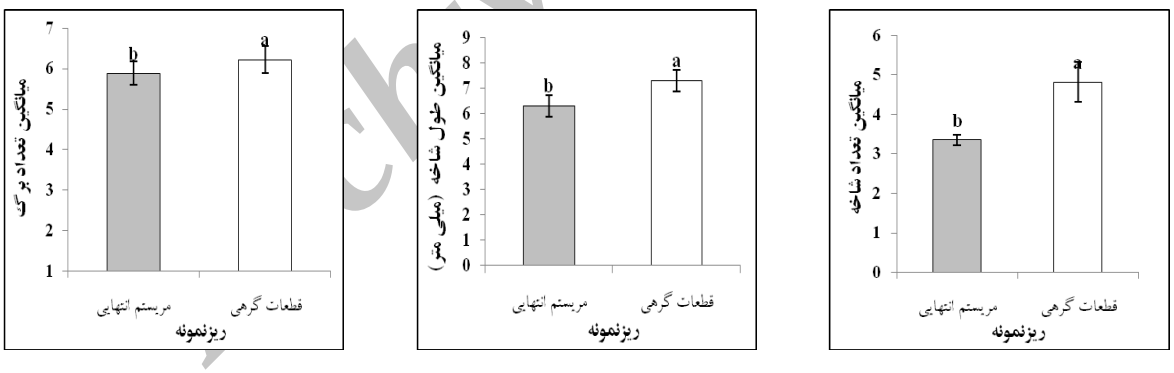
www.SID.ir



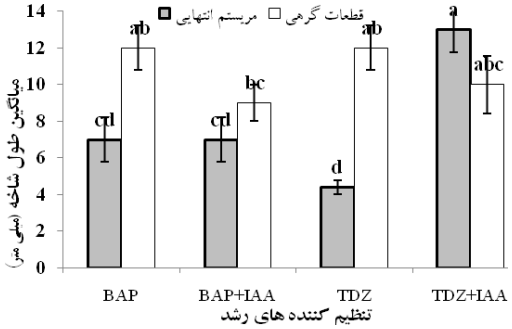
شکل ۱- باززایی بنه با استفاده از ریزنمونه قطعات گرهی و تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف: A) BAP؛ B) BAP+IAA؛ C) TDZ؛ D) TDZ+IAA؛ E) ریشه‌زایی تحت تأثیر ریزوپون؛ F) ریشه‌زایی تحت تأثیر محلول IBA.

جدول ۱- تجزیه واریانس تیمارهای مختلف و برهم کنش آنها بر صفات شاخه‌زایی. ** تفاوت معنی‌دار در سطح P<0.01، * تفاوت معنی‌دار در سطح P<0.05 و ns عدم تفاوت معنی‌دار.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		تعداد شاخه	تعداد برگ	طول شاخه (میلی‌متر)
ریزنمونه	۱	۳۸/۰۲**	۴۲/۰۲*	۸۴/۱۰**
محیط کشت	۳	۱/۲۹^{ns}	۱۰/۳۶^{ns}	۲۵/۹۳*
ریزنمونه×محیط کشت	۳	۱/۵۶^{ns}	۲/۵۶^{ns}	۵۱/۷۷**
اشتباه آزمایشی	۳۲	۱/۱۴	۷/۹۷	۶/۹۸



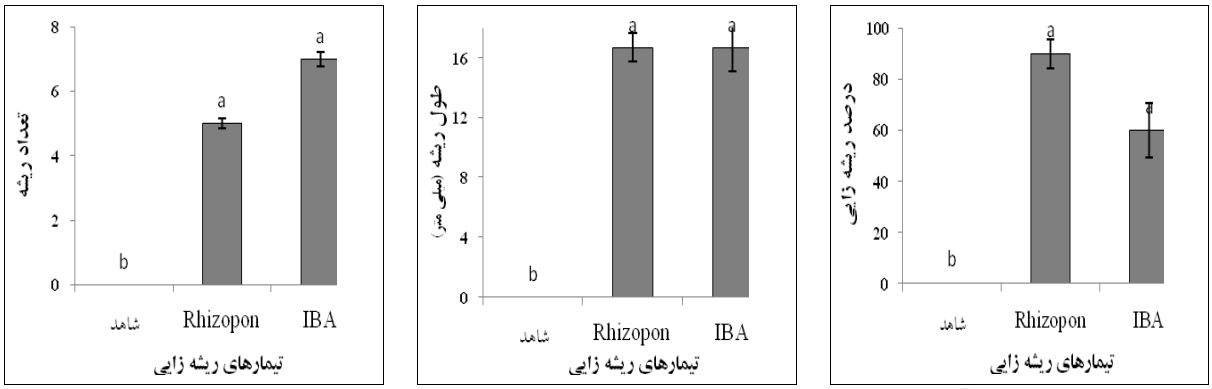
شکل ۲- تأثیر ریزنمونه‌های مختلف بر صفات مربوط به شاخه‌زایی



شکل ۳- اثر متقابل تنظیم کننده‌های مختلف و نوع ریزنمونه بر صفت طول شاخه. مقادیر، میانگین ۵ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۴- مقایسه تیمارهای مختلف (شاهد، ریزوپون و IBA) بر صفات ریشه‌زایی پسته وحشی. مقادیر، میانگین ۵ تکرار ± SE است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن است.

بحث

توسعه و تکثیر گونه‌های چوبی نظیر پسته، با روش‌های سنتی، زمان‌بر و پُر هزینه است (Can *et al*., 2006)، بنابراین، تکنیک کشت بافت می تواند نقش مؤثری بر باززایی سریع این گونه‌ها داشته باشد.

کشت آزمایشگاهی ریزنمونه‌های گرفته شده از درختان بالغ به خاطر وضعیت فیزیولوژیک آنها بسیار دشوار است و واکنش بافت‌ها سریع نیست. برای غلبه بر این مانع، استفاده از ریزنمونه‌های گیاهچه‌ای می‌تواند مؤثر باشد (Yildrim, 2012). در بررسی حاضر، از گیاهچه‌های جوان بنه برای تهیه ریزنمونه‌های مریستم انتهایی و قطعات گرهی (مریستم جانبی) استفاده شد. تکثیر شاخه با استفاده از این ریزنمونه‌ها عمومی‌ترین روش در ریزازدیادی گونه‌های جنگلی محسوب می‌شود (Akbari-Khabbaz *et al*., 2007).

در تحقیق حاضر، برای استقرار کشت‌ها از محیط کشت MS همراه با ویتامین‌های B5 استفاده شد زیرا معروف‌ترین محیط کشت برای گونه‌های درختی سخت چوب، محیط کشت MS و انواع رقیق شده آن است (Bonga and Von-Aderkas, 1992) و پژوهشگران مختلف برای ریزازدیادی گونه‌های جنس پسته از این محیط کشت به همراه ویتامین‌های B5 نتایج مطلوبی به دست آورده‌اند (Tilkat *et al*., 2009؛ Benmahioul *et al*., 2012؛ Yildrim, 2012). یکی از عوامل اصلی محدود کننده در استقرار و تثبیت کشت‌های آزمایشگاهی برای بسیاری از درختان از جمله پسته، قهوه‌ای شدن ریزنمونه است که یک پدیده خودکاتالیزوری است و به دنبال ترشح مواد فنلیِ از بافت‌های کشت شده ایجاد می‌شود. این ترکیبات پس از صدمه دیدن بافت در حین جداسازی ریزنمونه، با فعالیت پلی فنل اکسیدازها اکسید شده، موجب قهوه‌ای یا سیاه شدن بافت مزبور می گردند. محصولات این اکسیداسیون فعالیت آنزیمی را متوقف نموده، ریزنمونه را می کشند و موجب تیره شدن بافت‌ها در محیط کشت می‌شوند که این امر تثبیت ریزنمونه را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gercheva *et al*., 2008)، بنابراین در آزمایش حاضر از مواد پاداکساینده مانند زغال فعال استفاده شد.

در تحقیق حاضر از ۷ گرم در لیتر آگار برای جامد ساختن محیط کشت استفاده شد زیرا میزان جذب تنظیم‌کننده‌ها توسط ریزنمونه به میزان سفتی

Archive of SID

www.SID.ir

محیط‌کشت بستگی دارد. به طوری که نرم بودن محیط‌کشت باعث جذب بهتر آنها و تولید شاخه‌های بیشتر می‌شود (Bonga and Von-Aderkas, 1992). این میزان آگار توسط محققان پیشین برای ریزازدیادی گونه‌های پسته استفاده شده است (Vatanpour et al., 2005؛ Azghandi et al., 2012؛ Benmahioul et al., 2012؛ Yildrim, 2012). در بررسی حاضر، تمامی ترکیبات هورمونی از جمله BAP، برای صفات تعداد شاخه و برگ دارای کارآیی مطلوب و یکسانی بودند. پیش از این، Sheibani و Villiers (۱۹۹۵) و Ghoraishi (۲۰۰۶) پس از بررسی غلظت‌های مختلف BAP نشان داده بودند که مطلوب‌ترین محیط‌کشت برای گونه‌های پسته، محیط MS به ترتیب همراه با ۵ میلی‌گرم در لیتر و ۲۰ میکرومولار BAP است. Behboodi (۲۰۰۲)، Benmahioul و همکاران (۲۰۱۲) و Yildrim (۲۰۱۲) تأثیر مطلوب تنظیم‌کننده BAP بر تکثیر آزمایشگاهی گونه‌های را تأیید نمودند.

در مطالعات گذشته تأثیر هورمون TDZ بر ریزازدیادی گونه‌های جنس پسته بررسی نشده است، اما برای ریزازدیادی جنس‌های دیگر نظیرِ *Salvia* برتری هورمون BAP نسبت به TDZ گزارش شده است. مطابق این نتایج، هورمون BAP بیشترین تأثیر را بر افزایش تعداد ساقه‌ها به ازای هر ریزنمونه داشت (Arikat et al., 2004؛ Misic et al., 2006؛ Echeverrigaray et al., 2010). برخلاف نتایج سایر پژوهشگران، در مطالعه حاضر استفاده از دو هورمون BAP و TDZ و ترکیب آنها با هورمون IAA کارآیی مشابهی برای ریزازدیادی (تعداد شاخه و برگ) داشتند.

بررسی حاضر نشان داد که ترکیبِ TDZ+IAA باعث تولید بلندترین شاخه‌های ریزنمونه مریستم انتهایی شد و TDZ به تنهایی برای صفت طول شاخه این ریزنمونه کارآیی چندانی نداشت. در حالی که افزودنِ IAA به BAP بر بهبود شاخه‌زایی مریستم انتهایی تأثیری نداشت.

ریشه‌زایی در شرایط خارج از آزمایشگاه می تواند به عنوان روشی ساده و کم هزینه به کار گرفته شود، به طوری که در این روش تعداد ریشه و کیفیت سیستم ریشه‌ای گیاهچه‌های باززایی شده دارای کارآیی بالایی است (Huang *et al.*, 2011). این سیستم برای گونه‌های چوبی دیگر نظیرِ: *Quercus robur* (Meier-Dinkel *et al.*, 1993)، *Fraxinus* spp. (Kim *et al.*, 1998) و *Ceratonia siliqua* (Romano *et al.*, 2002) نیز به کار گرفته شده است.

تأثیر مثبت ریزوپون (۲ درصد) بر ریشه‌زایی پسته اهلی (*P. vera*) برای نخستین بار توسط Benmahioul و همکاران (۲۰۱۲) مطالعه شده است. نتایج آنها نشان داد که ۷۸ درصدِ گیاهچه‌های تیمار شده با ریزوپون، ۳/۸ ریشه تولید کردند. در مطالعه حاضر نیز استفاده از هر دو تیمار ریزوپون و محلول IBA به افزایش درصد ریشه‌زایی منجر شد. علاوه بر این، در گزارش‌های Benmahioul و همکاران (۲۰۱۲)، ریشه‌زایی ۲ تا ۳ هفته پس از اجرای آزمایش صورت گرفت، در حالی که در آزمایش حاضر ریشه‌زایی در مدت زمان کوتاه‌تر و پس از ۱۰-۱۲ روز انجام گرفت. بنابراین، به نظر می‌رسد که گونه‌های مختلف جنس پسته پاسخ‌های نسبتاً متفاوتی به ریزوپون نشان می‌دهند.

Archive of SID

www.SID.ir

جمع‌بندی

تکثیر غیرجنسی گونه‌های پسته با روش‌های معمول مشکل یا غیرممکن است. از سوی دیگر، استفاده بیش از حد و غیر اصولی از درختان پسته وحشی به منظور استخراج عصاره و استفاده‌های دیگر، تکثیر آن را با مشکل مواجه ساخته است (Bahrani *et al*., 2010). تا جایی که سن اغلب درختان پسته وحشی بیش از ۵۰ سال است و در سال‌های اخیر باززایی آنها، به جز در برخی مناطق که خارج از دسترس حیوانات اهلی هستند با مشکل مواجه است (Pourreza *et al*., 2008)، بنابراین، استفاده از روش‌های جایگزین برای تکثیر این گونه امری ضروری است.

با توجه به نتایج بررسی حاضر و مطالعات گذشته مشخص می‌شود که استفاده از تنظیم‌کننده BAP به منظور شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها کارآیی مطلوبی دارد.

انجام مراحل ریشه‌انگیزی و طویل شدن ریشه در خارج از شیشه، روشی معمول‌تر است و برای بسیاری از گونه‌ها که به راحتی ریشه نمی‌دهند و سازگار نمی‌شوند به ویژه گونه‌های چوبی، ریزقلمه‌ها در شرایط خارج از آزمایشگاه ریشه‌زا می‌شوند. علاوه بر این، تعداد ریشه‌ها، کیفیت و کمیت ریشه‌های تولید شده در این روش بهتر خواهد بود و هنگام انتقال به مزرعه نیز دارای نسبت بقای بالاتری خواهند بود. در این حالت، از کشت‌های درون شیشه‌ای فقط برای تولید پایه‌های عاری از بیماری یا گیاهان تغییر یافته استفاده می‌شود (Benmahioul *et al*., 2012).

بنابراین می‌توان گفت که ریشه‌زایی در شرایط گلخانه‌ای مناسب‌تر از ریشه‌های تشکیل شده در آزمایشگاه است. به علاوه، ریشه‌زایی گلخانه‌ای می‌تواند به عنوان یک فرصت برای بهبود کارآیی ریزازدیادی از دیدگاه زیستی و اقتصادی مطرح شود.

سپاسگزاری

نگارندگان از حمایت و همکاری مسؤولان و کارکنان دانشکده کشاورزی دانشگاه ایلام تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

Akbari-Khabbaz, M., Ghamari-Zare, A., Ghorbanli, M., Asareh, M. H. and Emam, M. (2007) Micropropagation of *Eucalyptus gongylocarpa* Blakely. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 15: 142-158 (in Persian).

Arefi, H. M., Abdi-Ghazijahani, A. and Saydian, S. E. (2007) Investigation of general combining ability in *Pistacia atlantica* in Eastern Azerbaijan of Iran. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 14(4): 181-195 (in Persian).

Arikat, N. A., Jawad, F. M., Karam, N. S. and Shibli, R. A. (2004) Micropropagation and accumulation of essential oils in wild sage (*Salvia fruticosa* Mill.). Scientia Horticulturae 100: 193-202.

Bahrani, M. J., Yeganeh, M. and Heidari, B. (2010) Distribution of *Pistachio mutica* F. & M. as influenced by topographical factors and soil properties in mountain areas of Western Iran. International Journal of Ecology and Environmental Sciences 36: 37-43.

Barghchi, M. (1982) *In vitro* propagation of *Pistacia* species. PhD thesis, University of Nottingham, Nottingham, UK.

Barghchi, M. and Alderson, P. G. (1985) *In vitro* propagation of *P. vera* and commercial varieties of

Archive of SID

www.SID.ir

Ohadi and Kalleghochi. Scientia Horticulturae 60: 423-440.

Behboodi, B. (2002) Tissue culture results of all wild *Pistachio* species and some cultivars in Iran. ActaHorticulturae 591: 399-403.

Benmahioul, B., Dorion, N., Kaid-Harche, M. and Daguin, F. (2012) Micropropagation and *ex vitro* rooting of Pistachio (*Pistacia vera*). Plant Cell Tissue and Organ Culture 108: 353-358.

Bonga, J. M. and Von-Adrekas, P. (1992) *In vitro* culture of trees. Kluwer Academic Publishers, Boston, Massachusetts.

Can, C., Özaslan, M., Töremen, H., Sarpkaya, K. and Iskender, E. (2006) *In vitro* micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. var. Siirt, on wild pistachio rootstocks. Journal of Cell and Molecular Biology 5: 25-31.

Echeverrigaray, S., Postingher-Carrer, R. and Bavaresco-Andrade, L. (2010) Micropropagation of *Salvia guaranitica* benth through axillary shoot proliferation. Brazilian Archives of Biology and Technology 53: 883-888.

Gamborg, O. L., Miller, R. A. and Ojima, K. (1968) Nutrient requirements of suspension culture of soybean root cells. Experimental Cell Research 50: 151-158.

Gercheva, P., Zhivondov, A., Nacheva, L. and Avanzato, D. (2008) Transsexual forms of pistachio (*Pistacia terebinthus*) from Bulgaria Biotechnological approaches for preservation, multiplication and inclusion in selection programs. Bulgarian Journal of Agricultural Science 14: 449-453.

Ghoraishi, S. R. (2006) Micropropagation of *P. mutica*. Acta Horticulturae 726: 183-192.

Huang, P. L., Liao, L. J., Tsai, C. C. and Liu, Z. H. (2011) Micropropagation of bromeliad *Aechmeafasciata* via floral organ segments ans effects of acclimatization on plantlet growth. Plant Cell Tissue and Organ Culture 105: 73-78.

Jahanbazy-Gojani, H., Iranmanesh, Y. and Naghavi, H. (2012) Economic value of pistachio (*Pistacia mutica*) meal and its using on feeding of herbivorous animals. International Journal of Science and Nature 3(1): 73-77 (in Persian).

Jahanbazy-Gojani, H., Iranmanesh, Y. and Talebi, M. (2006) Seed production potential of pistachio forests of Chaharmahal va Bakhtiari province and its economical effects on dwellers welfare. Iranian Journal of Forest and Poplar Research 14(2): 59-167 (in Persian).

Kim, M. S., Klopfenstein, N. B. and Cregg, B. M. (1998) *In vitro* and *ex vitro* rooting of micropropagated shoots using three green ash (*Fraxinus pennsylvanica*) clones. New Forersts 16: 43-57.

Meier-Dinkel, A., Becker, B. and Duckstein, D. (1993) Micropropagation and *ex vitro* rooting of several clones of late-flushing *Quercus robur*. Annales Des Sciences Forestieres 50: 319-322.

Misic, D., Grubisic, D. and Konjevic, R. (2006) Micropropagation of *Salvia brachyodon* through nodal explants. Biologia Plantarum 50: 473-476.

Modarres, M., Lahouti, M., Gangeali, A. and Asili, J. (2012) Study of micropropagation of *Salvia leriifolia* Benth using shoot tip. Journal of Plant Biology 14: 89-101 (in Persian).

Murashige, T. and Skoog, F. (1962) A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco cultures. Physiologia Plantarum 15: 473-497.

Negahdar-Saber, M. R. and Abbasi, A. R. (2010) Impacts of ground cover vegetation on natural regeneration of wild pistachio (*Pistacia atlantica*) (Case study: wild pistachio experimental forest, Fars province). Iranian Journal of Forest and Poplar Research 18: 630-638 (in Persian).

Onay, A. (2000) Histology of somatic embryogenesis in cultured leaf explants of Pistachio (*Pistacia*

Archive of SID

www.SID.ir

vera). Turkish Journal of Botany 24: 91-95.

Onay, A., Pirink, V., Adiyaman, F., Isikalan, C., Tilkat, E. and Basaran, D. (2003) *In vivo* and *in vitro* micrografting of pistachio, *Pistacia vera*. Turkish Journal of Biology 27: 95-100.

Ozden-Tokatli, Y., Ozudogru, E. A. and Akcin, A. (2004) *In vitro* regeneration of pistachio (*Pistacia vera*) through organogenesis: effect of silver nitrate, polyvinylpyrrolidone and citric acid. *In Vitro* Cellular and Developmental Biology 40: 46-52.

Ozden-Tokatli, Y., Ozudogru, E. A. and Akcin, A. (2006) Optimization of an efficient micropropagation protocol and assessment of plant genetic fidelity by RAPD markers in pistachio (*Pistacia vera*). Scientia Horticulturae 20: 162-169.

Parfitt, D. E. and Almehdi. A. (1994) Use of high CO_2 atmospheric and medium modifications for the successful micropropagation of pistachio. Scientia Horticulturae 56: 321-329.

Pourreza, M., Shaw, J. D. and Zangeneh, H. (2008) Sustainability of wild pistachio (*Pistacia atlantica* Desf.) in Zagros forests, Iran. Forest Ecology and Management 255: 3667-3671.

Rajabpoor, Sh., Saboora, A. and Vatanpour-Azghandi, A. (2011) Changes in exogenous hormone concentration and its effect on somatic embryo maturation and microcorm formation of saffron (*Crocus sativus* L.). Journal of Plant Biology 8: 41-58 (in Persian).

Romano, A., Barros, S. and Martins-Loucao, M. A. (2002) Micropropagation of the Mediterranean tree *Ceratonia siliqua*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 68: 35-41.

Sheibani, A. and Villiers, T. (1995) Effect of explants type and culture medium on micropropagation of three *Pistacia* species. Acta Horticulturae 419: 229-232.

Tilkat, E., Onay, A., Yildrim, H. and Ayaz, E. (2009) Direct plant regeneration from mature leaf explants of pistachio, *Pistacia vera* L. Scientia Horticulturae 12: 361-365.

Vatanpour Azghandi, A., Tajabadipour, A., Mojtahedi, N., Zadeh-Parizi, R., Rostami, A., Habashi, A. A. and Shakib, A. M. (2005) Developing practical protocols for micropropagation of 6 important Pistachio rootstocks. Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj (in Persian).

Yildrim, H. (2012) Micropropagation of Pistacia lentiscus from axenic seedling-derived explants. Scientia Horticulturae 137: 29-35.

Archive of SID

www.SID.ir

Effect of explant origin and different growth regulators on micropropagation of *Pistacia atlantica* ssp. *mutica*

Zeinab Safari, Ali-Ashraf Mehrabi * and Ali Arminian

Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Horticulture, Ilam University, Ilam, Iran

Abstract

Propagation of wild pistachio as a multipurpose woody species is a hard and tedious task. In this research, an effective *in vitro* protocol was developed for rapid proliferation of wild pistachio (*Pistacia atlantica* ssp. *mutica*) in MS medium supplemented with B5 vitamins and different growth regulators. Rooting of plantlets was tested by two treatments containing Rhizopon and IBA in *ex vitro*. With respect to the results, the nodal segments explants, produced the highest shoot frequency, leaf frequency and the tallest shoots. On the other hand, the tallest shoots were generated from shoot tip explant and medium containing of TDZ plus IAA. Both treatments (Rhizopon and IBA) led to a remarkable increase in the number of roots, root length and rooting percentage compared to the control. These results may be applied for rapid proliferation to spread the pistachio trees and shrubs that are difficult and time consuming.

Key words: Regeneration, Wild pistachio (*Pistacia atlantica* ssp. *mutica*), Growth regulator, Explant

Archive of SID

* Corresponding Author: a.mehrabi@mail.ilam.ac.ir

www.SID.ir