مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۳۰، شماره ۳، سال ۱۳۹۳

ازدیاد درون شیشه‌ای تعدادی از پایه‌های امیدبخش حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای هسته‌داران

In- Vitro Propagation of some Promising Rootstocks from Interspecific Crosses of Stone Fruits

مریم تاتاری[۱]، جلیل دژم‌پور[۲] و سیداصغر موسوی[۳]

۱- محقق، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان
۲- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی، تبریز
۳- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهار محال و بختیاری، شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۱۱/۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۵/۴

چکیده

تاتاری، م.، دژم‌پور، ج. و موسوی، س. ا. ۱۳۹۳. ازدیاد درون شیشه‌ای تعدادی از پایه‌های امیدبخش حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای هسته‌داران. **مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۳۰ (۳):** ۲۵۲- ۲۴۱.

به منظور گسترش و توسعه استفاده از پایه‌های رویشی در درختان میوه هسته‌دار، در این پژوهش سه ژنوتیپ امیدبخش شامل دو ژنوتیپ حاصل تلاقی زردآلو وگوجه (Hs519 و Hs303) و یک ژنوتیپ حاصل تلاقی گوجه و بادام (Hs725) با هدف ریزازدیادی درون شیشه‌ای بررسی شدند. ریزنمونه‌های جوانه انتهایی و جوانه‌های جانبی دورگ‌های مورد مطالعه، گندزدایی و در شرایط درون شیشه‌ای، در محیط‌های کشت MS تغییر یافته، WPM، Knop و QL با ترکیبی از ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA قرار گرفتند. نتایج حاصل از نوع محیط کشت نشان داد که در هر سه پایه رویشی مورد مطالعه، محیط کشت MS تغییر یافته از نظر کمی و کیفی بهترین نتیجه را داشت، لذا تیمار ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد، در محیط کشت MS ارزیابی قرار گرفت. مقادیر ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA اقتصادی‌ترین ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد بود که مناسب‌ترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کرد. اختلاف معنی‌داری در پرآوری پایه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. پایه‌های رویشی Hs725 و Hs519 به ترتیب گیاهچه‌هایی با میانگین طول ۳/۰۹۲ و ۳/۰۳۷ سانتی‌متر تولید کردند. پایه Hs519 در محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های بالاتر BAP و NAA تولید پینه کرد و پایه Hs725 در این محیط‌های کشت شیشه‌ای شد. مطلوب‌ترین تعداد ریشه و درصد ریشه‌زائی به ترتیب با میانگین‌های هفت عدد و ۶۳ درصد در پایه Hs725 و بیشترین طول ریشه با میانگین ۹/۳۳ سانتی‌متر در پایه Hs303 در محیط حاوی IBA با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر حاصل شد. به طور کلی غلظت‌های کم‌تر تنظیم کننده‌های رشد پرآوری مطلوب‌تر این پایه‌های امیدبخش را به دنبال داشت.

واژه‌های کلیدی: پایه‌های رویشی، تنظیم کننده‌های رشد، ریزازدیادی، محیط کشت.

نویسنده مسئول: mtatari1@yahoo.com تلفن: ۰۳۱۱۷۷۵۷۲۰۵

مقدمه

در میوه‌کاری، پایه پیوندی در اعمال مدیریت صحیح باغ و داشتن تولید اقتصادی نقش اصلی و کلیدی را ایفا می‌کند. یکی از مهم‌ترین علل خشکیدگی درختان میوه هسته‌دار در ایران عدم استفاده از پایه‌های هم‌گروه و مقاوم به شرایط نامساعد محیطی است. مطالعات اخیر در کشورهای پیشرفته منجر شده است تا پایه‌های متعددی با صفات مطلوب از جمله داشتن قابلیت ازدیاد رویشی، پا کوتاهی، مقاومت به تنش‌های زنده و غیرزنده معرفی و در اختیار تولیدکنندگان قرار گیرد. انتخاب مناسب‌ترین روش ازدیاد رویشی، می‌تواند در تولید انبوه این پایه‌ها و در نتیجه اصلاح باغ‌های هسته‌دار در کشور نقش داشته باشد. یکی از مهم‌ترین این روش‌ها ازدیاد گسترده آن‌ها از طریق کشت درون شیشه‌ای است (Beckman and Lang, 2003). در تحقیقات انجام شده اثر عوامل مختلف مثل اثر کربوهیدرات‌های مختلف (Nowak *et al*., 2004)، ترکیب منابع مختلف آهن در محیط کشت (Molassiotis *et al*., 2003) و اثر ترکیبات مختلف تنظیم کننده‌های رشد (Pruski *et al*., 2000) در ازدیاد درختان میوه هسته‌دار مورد بررسی قرار گرفته است.

به گزارش روزیک و همکاران (Ruzic *et al*., 2003) ترکیب محیط کشت و غلظت نمک‌ها نقش مهمی را در ریزازدیادی پایه گیلاس بازی می‌کند. در محیط کشت MS (Murashige and Skoog) با نصف غلظت عناصر میکرو، رشد گیاهچه‌های گیلاس افزایش پیدا کرد. اثر آهن آلی (Fe-EDDHA و Fe-EDTA) و آهن معدنی ($FeCl_2$) بر ریشه‌زایی پایه رویشی GF677 در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد. در ریزنمونه‌های تغذیه شده با Fe-EDDHA، ریشه‌زایی کامل (۱۰۰ درصد) مشاهده شد، در حالی که در حضور $FeCl_2$ ریشه‌زایی کم‌تر بود. در محیط حاوی Fe-EDTA، ریشه‌ایی تشکیل نشد (Molassiotis *et al*., 2003).

به گزارش رگالسکی و همکاران (Rogalski *et al*., 2003) بیش‌ترین پرآوری آلو رقم سانتارزا (Santa Rosa) در محیط حاوی دو میلی‌گرم در لیتر BAP (Benzylaminopurine) و بیش‌ترین ارتفاع شاخساره در محیط دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حاصل شد. کمالی و همکاران (Kamali *et al*., 2006) گزارش کردند که پرآوری ژنوتیپ‌های بذری بادام در محیط MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (Naphthaleneacetic acid) حاصل شد. مطلوب‌ترین محیط برای طویل شدن ریزنمونه‌های دورگ بین گونه‌ای GF677 در محیط کشت Knop حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و برای ژنوتیپ‌های بذری محیط کشت MS با همین غلظت از BA بود. در پژوهشی آلوی بیستریکا (Bistrica) که به عنوان پایه‌ای برای زردآلو به کار می‌رود، به صورت درون شیشه‌ای ازدیاد شد. بیش‌ترین پرآوری شاخساره روی محیط کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA (Indole Butyric Acid) حاصل شد

(Ambrozic *et al.*, 1992).

کاهش غلظت عناصر معدنی محیط کشت MS تا نصف مقدار طبیعی آن، درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌های PR204/84 را افزایش داد (Fotopoulos and Sotiropoulos, 2005). در پژوهشی دژم‌پور و همکاران (Dejampour *et al.*, 2011) ریزازدیادی دورگ Hs314 (*Prunus amygdulus* × *P. persica*) را بررسی و بهترین نتیجه را از محیط کشت DKW با دو میلی‌گرم در لیتر IBA گرفتند. آن‌ها با کاهش غلظت مواد معدنی به نصف، ریشه‌زای را از ۶۶ درصد به ۸۵ درصد ارتقا دادند.

در برنامه‌های به‌نژادی پایه‌ها، به منظور تجمیع صفات مطلوب در یک پایه معمولا اقدام به تلاقی بین گونه‌ای می‌شود. در سال ۱۳۸۱ مطالعه‌ای در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند روی ۱۲۰ دورگ بین گونه‌ای جنس پرونوس انجام شد (Dejampour *et al.*, 2007a). این دورگ‌ها شامل ۴۶ دورگ مصنوعی حاصل تلاقی‌های مختلف کنترل شده و ۶۰ دورگ طبیعی جمع‌آوری شده از مناطق مختلف استان آذربایجان شرقی بودند. در بررسی این پایه‌ها صفات مقاومت نسبی به آفات و بیماری‌ها، مقاومت به تنش‌های محیطی، عدم پاجوش‌دهی، قدرت رشد درخت، استقرار در خاک و فرم ریشه‌دهی مورد توجه قرار گرفت. در نهایت تعدادی از این پایه‌ها به عنوان ارقام امیدبخش مطرح شدند (Dejampour *et al.*, 2007a,b). از جمله این پایه‌ها دورگ‌های بین گونه‌ای Hs519 و Hs303 حاصل تلاقی زردآلو و گوجه و نیز دورگ Hs725 حاصل تلاقی گوجه و بادام است. این پایه‌ها داری قدرت رشد متوسط بوده و سازگاری اقلیمی خوبی با شرایط ایران دارند. درصد ریشه‌زای این پایه‌ها با استفاده از قلمه به طور نسبی قابل قبول بوده و بین ۴۵ تا ۵۵ درصد گزارش شده است (Dejampour *et al.*, 2007a). به دلیل اهمیت روزافزون پایه‌های رویشی، ضروری است نسبت به ازدیاد این پایه‌ها به صورت کلون اقدام شود، لذا در این تحقیق امکان کشت و ازدیاد درون شیشه‌ای این پایه‌ها مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش سه دورگ امیدبخش به عنوان پایه هسته‌داران که حاصل تلاقی دو ژنوتیپ زردآلو و گوجه (Hs519 و Hs303) و یک ژنوتیپ گوجه و بادام (Hs725) بودند، از نظر قابلیت ریزازدیادی درون شیشه‌ای بررسی شدند. نمونه‌ها به صورت شاخه یک‌ساله از پایه‌های مادری موجود در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند تهیه در شرایط خنک به آزمایشگاه کشت بافت بخش تحقیقات باغبانی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج ارسال شدند. ریزنمونه‌های جوانه جانبی و انتهایی به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد (با ۲/۵ درصد ماده موثره) قرار گرفتند و پس از شستشو با آب مقطر استریل در محیط کشت‌های مختلف قرار گرفتند. این محیط‌های کشت شامل محیط کشت تغییر یافته MS، WPM (Lloyd and McCown, 1980)، Knop (1884) و QL (Quoirin and Lepoivre, 1977) هر کدام حاوی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم

در لیتر NAA بودند. پایه‌های استقرار یافته به منظور پرآوری در همین محیط‌ها بازکشت شدند.

پس از انتخاب بهترین محیط کشت، غلظت‌های مختلف BAP و NAA شامل ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (ادامه بازکشت‌ها در محیط کشت استقرار)، ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و نیز یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مورد استفاده قرار گرفتند. به طور متوسط هر چهار هفته یک بار، گیاهچه‌ها بسته به شرایط رشدی نمونه‌ها بازکشت شدند. شرایط اتاق رشد شامل ۱۶ ساعت دوره نوری، دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۴ درجه سانتی‌گراد در شب، رطوبت نسبی ۴۵ درصد و شدت نور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس بود. تعداد و طول ساقه‌چه‌های پرآوری شده ثبت شد. شاخه‌ها در اندازه دو تا سه سانتی‌متری به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند. به این منظور از محیط کشت تغییر یافته MS، حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA و یا یک میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده شد. ساقه‌چه‌ها پس از قرار گرفتن در محیط کشت ریشه‌زای، به مدت یک هفته در شرایط اتاق رشد تاریک قرار گرفتند و پس از آن به شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند و در نهایت تعداد و طول ریشه‌های تولید شده ثبت شد. گیاهچه‌های حاصل در اتاق سازگاری به محیط کشت پیت و پرلیت منتقل شدند. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در پایه طرح آزمایشی کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل چهار مشاهده به اجرا درآمد. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

عناصر پرمصرف، کم مصرف و ویتامین‌های به کار برده شده در محیط MS و مقادیر آن‌ها در جدول ۱ نشان داده شده است.

گندزدایی

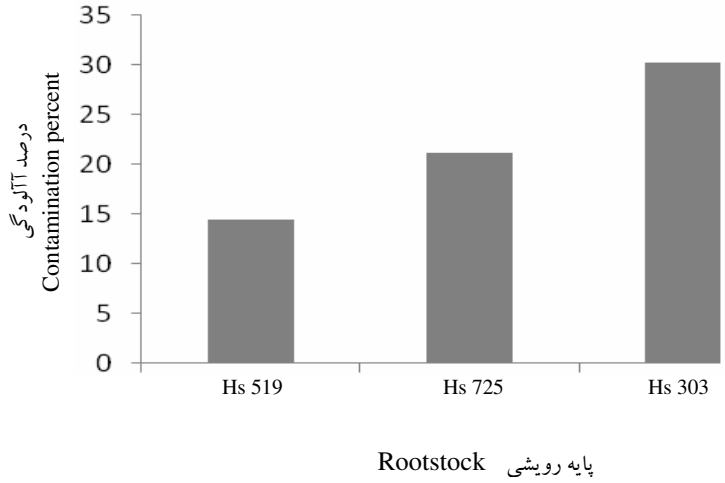
نتایج نشان داد که بیش‌ترین درصد آلودگی مربوط به پایه رویشی Hs303 و کم‌ترین درصد آلودگی با میانگین ۱۴/۵ درصد متعلق به پایه رویشی Hs519 بود (شکل ۱). افزایش غلظت هیپوکلریت سدیم و یا زمان‌های طولانی‌تر قرار گیری ریزنمونه در معرض ماده ضدعفونی کننده، درصد آلودگی را افزایش داد.

انتخاب محیط کشت

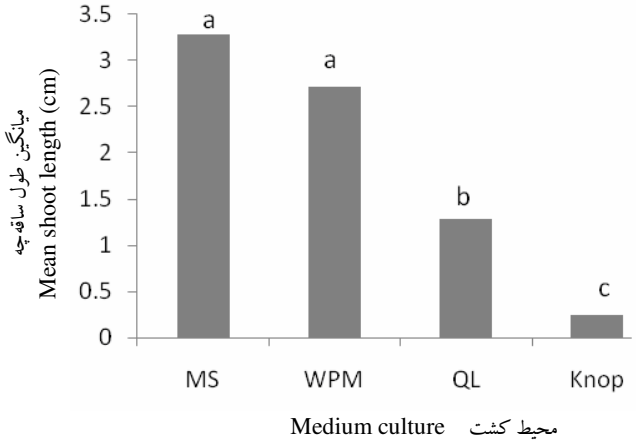
اثر محیط کشت بر تعداد و طول ساقه‌چه پرآوری شده نشان داد که محیط کشت WPM و MS تغییر یافته به ترتیب بیش‌ترین میانگین طول ساقه‌چه پرآوری شده را داشتند (شکل ۲). محیط کشت می‌تواند در رشد درون شیشه‌ای گیاهان بسیار موثر باشد (Pilar and Marin, 2005). در کشت درون شیشه‌ای، ترکیب محیط کشت روی رشد ساقه‌چه موثر است و این تاثیر در اثر ترکیب نمک‌های موجود در محیط کشت ایجاد می‌شود (Ruzic *et al.*, 2003). محیط کشت Knop ضعیف‌ترین عملکرد را نشان داد. این محیط کشت، محیط فقیری است و غلظت بعضی از عناصر در آن چندین برابر کم‌تر از سایر محیط‌ها است که این امر

جدول ۱- مقدار عناصر پر مصرف، کم مصرف و ویتامین‌ها در محیط کشت ساقه‌زایی MS تغییر یافته
Table 1. Amounts of macro and micro elements and vitamins in MS modified culture medium

عناصر پر مصرف Macro elements	میلی‌گرم در لیتر mgl^{-1}	عناصر کم مصرف Micro elements	میلی‌گرم در لیتر mgl^{-1}	ویتامین‌ها Vitamins	میلی‌گرم در لیتر Mgl^{-1}
NH_4NO_3	400	H_3BO_3	6.2	Pyridoxine*HCl	0.5
KNO_3	2100	$CuSO_4 * 5H_2O$	0.025	Ascorbic acid	10
$MgSO_4*7H_2O$	360	$MnSO_4 * H_2O$	16.9	Nicotinic Acid	0.5
KH_2PO_4	270	$ZnSO_4 * 7H_2O$	8.6	Thiamine *HCl	1
$Ca(NO_3)_2*4H_2O$	1200	$Na_2MoO_4 * 2H_2O$	0.25	Glycin	2
		KI	0.83	مواد مکمل Supplements	میلی‌گرم در لیتر mgl^{-1}
		$COCl_2$	0.025		
		$FeSO4 \times 7H_2O$	27.8	Pectine	0.2
		Na_2EDTA	37.3		



شکل ۱- درصد آلودگی ریزنمونه‌های پایه‌های مختلف در مرحله استقرار
Fig. 1. Contamination percent of different rootstocks explants in establishment stage



شکل ۲- میانگین طول ساقه‌چه پایه‌های رویشی در محیط کشت‌های مختلف
Fig. 2. Mean shoot length of rootstocks in different culture media

ستون‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه دانکن هستند.
Bars with similar letters are not significantly different at 5% level of probability of Duncan´s multiple range test.

در کاهش پرآوری در این محیط کشت تاثیرگذار است. کمالی و همکاران (Kamali *et al*., 2006) مطلوب‌ترین محیط برای طویل شدن ریزنمونه‌های GF677 را محیط کشت Knop حاوی ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و برای ژنوتیپ‌های بذری محیط کشت MS را با همین غلظت از BA گزارش کردند. در حالی که در این پژوهش محیط کشت Knop محیط مناسبی برای ازدیاد پایه‌های مورد مطالعه نبود.

بیش‌ترین تعداد ساقه‌چه را پایه رویشی Hs303 و پس از آن پایه Hs725 در محیط کشت WPM به ترتیب با ۵/۱۱ و ۴ عدد ساقه‌چه تولید کردند (جدول ۲). با این وجود بیش از ۵۰ درصد از ساقه‌چه‌های Hs303 و Hs725 رشد کرده در محیط کشت WPM دچار کلروز شده و رشد رزت را نشان دادند. انواع مختلف ناهنجاری‌های رشد، نظیر کلروز برگ‌ها، بافت مرده شدن انتهای برگ‌ها، آبکی شدن و قهوه‌ای شدن بافت‌ها به نحوی با نوع محیط کشت و غلظت عناصر غذایی پرمصرف، کم مصرف، ویتامین‌ها و مواد مکمل در ارتباط هستند (Zolfagharinasab *et al*., 2004). در پایه Hs519 نیز بین دو محیط کشت MS تغییر یافته و WPM اختلافی مشاهده نشد. مطابق شکل ۲ نیز محیط‌های کشت WPM و MS در طول ساقه‌چه اختلاف معنی‌داری را با یک‌دیگر نشان ندادند، بنابراین با توجه به موارد ذکر شده و پایین بودن کیفیت ساقه‌چه‌های Hs303 و Hs725 در محیط کشت WPM، محیط کشت MS تغییر یافته به عنوان بهترین محیط کشت برای تولید ساقه‌چه شناخته شد و لذا بهترین ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد روی این محیط کشت بررسی شد.

با توجه به این‌که محیط کشت MS تغییر یافته برخلاف محیط کشت WPM فاقد یون کلر است (جدول ۳)، مواد گیاهی در این محیط کم‌تر دچار زردی شده و پایداری ساقه‌چه‌ها افزایش یافت. در محیط‌هایی که میزان یون کلر افزایش می‌یابد، تعادل ساقه‌چه در جذب عناصر مختلف به هم می‌خورد (Kamali *et al*., 2001). محیط کشت MS تغییر یافته نسبت به سه محیط دیگر دارای مقدار کلسیم بیش‌تری است که در پایداری و استحکام ساقه‌چه‌ها نقش دارد. البته در محیط کشت MS تغییر یافته غلظت مواد دیگر نیز تغییر کرده که این تغییرات به سهم خود در رشد مطلوب گیاه تاثیر مثبت داشته است (جدول ۱). به نظر می‌رسد اسید آسکوربیک به کار رفته در محیط کشت MS تغییر یافته و ماده مکمل پکتین نیز در ارجحیت این محیط کشت بر سایر محیط‌ها اثر گذار بوده است. در ارتباط با مطلوب‌ترین محیط کشت و غلظت‌های مختلف نمک‌ها در کشت درون شیشه‌ای پایه‌ها و ارقام درختان میوه گزارش‌های متعددی موجود است که بسته به ژنوتیپ و شرایط کشت نتایج متفاوتی گزارش شده است. در کشت درون شیشه‌ای چندین رقم زردآلو، بهترین نتایج در محیط کشت QL و عناصر ماکروی WPM تغییر یافته حاصل شد (Perez *et al*., 2000). ترکیب محیط کشت روی میزان پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌داران تاثیر داشت، به طوری‌که پس از انجام نه زیرکشت، تعداد شاخساره روی محیط QL در مقایسه با محیط MS و WP به طور معنی‌داری کاهش یافت (Andreu and Marin, 2005). در

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل پایه رویشی و محیط کشت بر تعداد ساقه‌چه پرآوری شده
Table 2. Mean comparison for the effect of rootstock and culture medium on mean of shoot number

پایه رویشی Rootstock	محیط کشت Culture medium	میانگین تعداد ساقه‌چه پرآوری شده Mean of shoot number
Hs303	Knop	0.44±0.72f
Hs303	MS	1.77±1.56d
Hs303	QL	1.22±0.97e
Hs303	WPM	5.11±2.36a
Hs519	Knop	0±0g
Hs519	MS	2.44±1.01c
Hs519	QL	2±1.5d
Hs519	WPM	2.55±1.01c
Hs725	Knop	0±0g
Hs725	MS	2.38±0.99c
Hs725	QL	1.33±0.7e
Hs725	WPM	4±2.64b

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.
Similar letters indicate no significant difference at 5% level of Duncan´s multiple range test.

جدول ۳- مقایسه مقدار عناصر پرمصرف در چهار محیط کشت مورد مطالعه بر حسب میلی‌مول در لیتر
Table 3. Comparison of macro elements in four culture media (mMol/l)

عنصر غذایی Macro element	محیط کشت MS تغییر یافته MS modified medium	محیط کشت WPM WPM medium	محیط کشت QL QL medium	محیط کشت Knop Knop medium
Nitrogen	45.68	17.03	35.13	14.67
Potassium	22.59	12.62	19.37	4.31
Magnesium	3.00	3.08	1.46	2.08
Sulfur	3.00	8.77	3.01	2.08
Phosphorus	1.98	1.25	2.00	1.83
Calcium	7.31	4.26	3.53	6.09
Chloride	-	1.75	-	-

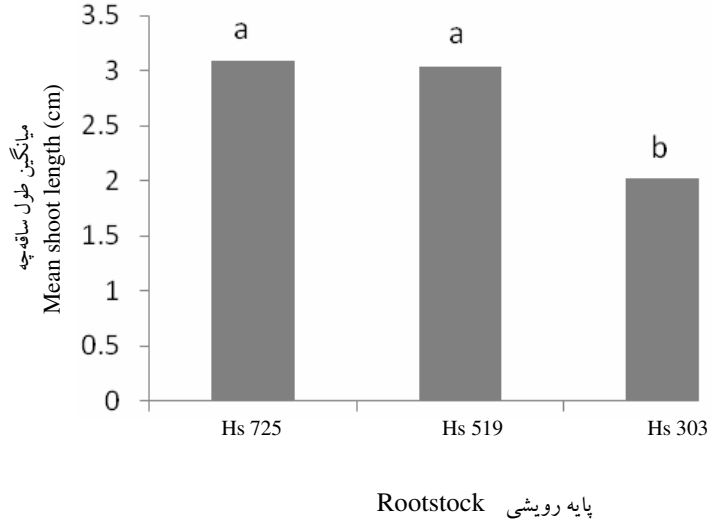
این پژوهش نیز پرآوری در محیط کشت QL کم‌تر از محیط کشت‌های MS تغییر یافته و WPM بود. اثر محیط‌های کشت پایه مختلف و غلظت سیتوکینین روی پرآوری زردآلوی کانینو (Canino) بررسی شد. شاخساره‌های سالم‌تر و سبزتر روی محیط کشت WP تغییر یافته ایجاد شدند (Perez *et al*., 2000).

عملکرد محیط کشت به ژنوتیپ نیز بستگی دارد. در بادام رقم نان پاریل، محیط کشت AP، محیط کشت مناسبی بود، در صورتی که برای رقم نی پلوس اولترا، محیط کشت MS پرآوری مطلوبی را به دنبال داشت (Channuntapipat *et al*., 2003). در تضاد با این گزارش، در پژوهش حاضر نوع دورگ هسته‌دار تاثیری در پرآوری نداشت، اما در تقابل با محیط کشت اثر معنی‌داری را نشان داد. در این راستا گزارش شده که محیط مناسب کشت برای ازدیاد و ریشه‌دهی پایه‌های مختلف یک جنس نیز می‌تواند

متفاوت باشد (Battistini and DePaoli, 2002).

انتخاب ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد

پایه‌های رویشی Hs725 و Hs519 بیش‌ترین طول ساقه‌چه را تولید کردند (شکل ۳). پایه رویشی Hs519 در محیط‌های کشت حاوی ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و نیز یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید پینه کرد. به نظر می‌رسد نسبت‌های هورمونی فوق به همراه هورمون‌های درونی برای این پایه رویشی پینه‌زا باشد. هر چند بین این سه ترکیب هورمونی اختلاف معنی‌داری دیده نشد، اما با توجه به مسئله پینه‌زایی، ترکیب ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین ترکیب برای پایه رویشی Hs519 است.



شکل ۳- اثر پایه رویشی بر میانگین طول ساقه‌چه پرآوری شده

Fig. 3. Effect of rootstock on mean of proliferated shoot length

ستون‌ها با حروف مشابه فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه دانکن هستند.

Bars with similar letters are not significantly different at 5% level of probability of Duncan's multiple range test.

پایه رویشی Hs725 در محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA پدیده شیشه‌ای شدن را نشان داد که به نظر می‌رسد به دلیل افزایش غلظت سیتوکنین باشد. ترکیب ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و نیز ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA اختلاف معنی‌داری را در پرآوری این پایه رویشی نداشتند، اما با توجه به غلظت کم‌تر تنظیم‌کننده‌های رشد در ترکیب اول، این غلظت از تنظیم‌کننده‌های رشد بهتر و مقرون به صرفه‌تر از سایر ترکیبات برای این پایه رویشی است. در بادام ارقام نان پاریل و نی پلوس اولترا افزایش بنزیل آدنین تا ۲۰ میکرومول به تنهایی یا در ترکیب با IBA منجر به شیشه‌ای شدن و افزایش شاخه‌های هایپرهیدریک (Hyperhydric) شد

(Channuntapipat *et al*., 2003).

هایپرهیدریسیتی (Hyperhydricity) مشکلی رایج در ریزازدیادی است. گیاهان هایپرهیدریک کلروفیل کمی داشته و شکننده و ترد هستند. داشتن میان گره‌های کوتاه، برگ‌های ضخیم، کوتیکول نازک و تولید اتیلن از مشخصه‌های این گیاهان است. هایپرهیدریسیتی با غلظت و نوع عامل ژل کننده محیط، ظرف کشت که می‌تواند روی تبادل گازها و غلظت بخار آب، دی‌اکسیدکربن و اتیلن موثر باشد، دما، نور و رطوبت نسبی محیط داخل و خارج از ظرف کشت، نوع ریزنمونه و نوع محیط کشت در ارتباط است (Debergh *et al*., 1992). در پژوهشی کمالی و همکاران (Kamali *et al*., 2006) محیط مناسب برای پرآوری پایه GF677، محیط MS حاوی ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید گزارش شد که به غلظت‌های مطلوب بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید در تحقیق حاضر نزدیک است. بیش‌ترین پرآوری شاخساره آلوی بیستریکا روی محیط کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد (Ambrozic *et al*., 1992). بیش از ۱۰ درصد از گیاهچه‌های Hs303 در محیط حاوی ترکیب هورمونی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA تولید ریشه کردند. دلیل این امر می‌تواند وجود اکسین درون‌زا در این ژنوتیپ باشد.

ریشه‌زائی در شرایط درون شیشه‌ای

پایه Hs725 بیشترین میانگین تعداد ریشه (هفت عدد) و درصد ریشه‌زایی (۶۸ درصد) و پایه رویشی HS303 بیشترین میانگین طول ریشه (۹/۳۳ سانتی‌متر) را در محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA داشتند (جدول ۴)، لذا می‌توان گفت استفاده از غلظت مشابه IBA در ریشه‌زایی این دو پایه موثرتر از اسید نفتالین استیک بوده است. پایه رویشی Hs519 در حضور NAA ریشه‌های بیش‌تر و طویل‌تری تولید کرد و درصد ریشه‌زای بالاتری داشت.

در پژوهشی بهترین شرایط برای القای ریشه‌دهی محیط حاوی چهار میلی‌گرم در لیتر IBA و تیمار تاریکی بود (Reeves *et al*., 1985). در پژوهش دیگری غلظت ۶/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA برای ریشه‌زایی پایه سخت ریشه‌زایی که حاصل تلاقی طبیعی زردآلو و گوجه بود، گزارش شد (Zolfagharinasab *et al*., 2004). در مقابل پایه رویشی محلب در محیط کشت بدون تنظیم کننده‌های رشد بیش‌ترین ریشه‌زایی را به همراه داشت (Mahdavian *et al*., 2010). در مقایسه با این پژوهش‌ها به نظر می‌رسد دورگ‌های مورد مطالعه در این پژوهش سخت ریشه‌زا نباشند. زیرا به غلظت‌های بالای تنظیم‌کننده‌های رشد برای ریشه‌زایی نیاز ندارند. پایه Hs519 در محیط دارای NAA ریشه‌های قطور به همراه مقداری پینه تولید کرد. NAA در ایجاد پینه نقش دارد (Mahdavian *et al*., 2011). پایه Hs725 نیز در این محیط تمایل به پرآوری داشت. این امکان وجود دارد که میزان هورمون‌های درون‌زا در

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم کننده‌های رشد
Table 4. Mean comparison of measured traits affected by rootstock and plant growth regulators

پایه رویشی Rootstock	تنظیم‌کننده‌های رشد PGR ($1mgl^{-1}$)	میانگین درصد ریشه‌زائی Rooting percentage	میانگین تعداد ریشه Root number	میانگین طول ریشه Root length (cm)
Hs303	NAA	45±0.78de	1.88±1.36d	3.16±2.59e
Hs303	IBA	53±1.23cd	2.55±1.58c	9.33±4.24a
Hs519	NAA	61±1.33b	4.33±1.93b	7.77±4.94b
Hs519	IBA	48±0.87d	2.55±1.33c	5.44±3.65d
Hs725	NAA	56±0.89c	2.33±0.70cd	6.66±1.08c
Hs725	IBA	68±1.75a	7±6.44a	6.16±4.72c

در هر ستون میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند، در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant difference at 5% level of Duncan's multiple range test.

پایه‌های مورد آزمایش در حدی باشد که با همکاری تنظیم‌کننده‌های رشد به کار رفته، بتواند منجر به ایجاد پینه و یا پرآوری شود.

بر اساس نتایج این پژوهش اگر چه تعداد ساقه‌چه‌های تولیدی در محیط کشت WPM برای پایه‌های رویشی Hs725 و Hs303 بیشتر بود، اما به دلیل عدم کیفیت ساقه‌چه‌ها و بروز کلروز و رشد رزت، محیط کشت MS تغییر یافته که پس از محیط WPM بیشترین تعداد ساقه‌چه را تولید کرد، قابل توصیه است. در ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد به کار رفته در این تحقیق، پتانسیل تولید ساقه‌چه در این پایه‌ها یکسان بود، لذا با در نظر گرفتن جنبه اقتصادی، کمترین غلظت تنظیم‌کننده رشد به کار رفته در این تحقیق یعنی ترکیب ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA برای هر سه پایه رویشی قابل توصیه است. پایه Hs725 پتانسیل ریشه‌زای بالاتری از سایر پایه‌ها داشت و بیشترین تعداد ریشه (هفت عدد) و درصد ریشه‌زایی (۶۸ درصد) را به خود اختصاص داد. کمترین پتانسیل ریشه‌زایی متعلق به پایه رویشی Hs303 بود. شایان ذکر است پایه‌های Hs725 و Hs303 در محیط دارای IBA و پایه Hs519 در محیط حاوی NAA تعداد ریشه و درصد ریشه‌زائی بالاتری داشتند.

References

Ambrozic, B., Smole, J., and Sifter, A, 1992. Micropropagation of a plum ecotype (*Prunus domestica* L.) as rootstock for apricot. Acta Horticulturae 300: 111-114.

Andreu, P., and Marin, J. A. 2005. *In vitro* culture establishment and multiplication of the Prunus rootstock Adesoto 101 (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulturae 106: 258-267.

Battistini, A., and DePaoli, G. 2002. Large scale micropropagation of several peach rootstocks. Acta Horticulturae 592: 29-33.

Beckman, T. G., and Lang, G. A. 2003. Rootstock breeding for stone fruits. Acta Horticulturae 622: 531-551.

Channuntapipat, C. H., Sedgley, M., and Collins, G. 2003. Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and NePlusUltra and the hybrid rootstocks Titan×Nemaguard. Scientia Horticulturae 98: 473-484.

Debergh, P., Aitken-Christie, J., Cohen, D., Grout, B., Von Arnold, S., Zimmerman, R., and Ziv, M. 1992. Reconsideration of the term 'vitrification' as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 30: 135-140.

Dejampour, J., Grigurian, V., Majidi, A., and Ali Asghar Zahed, N. 2007a. Evaluation of morphological characteristics of some interspecific hybrids in Prunus and propagation of them. Journal of Horticultural Science and Technology 8: 43-54 (in Persian).

Dejampour, J., Grigurian, V., Majidi, A., and Ali Asghar Zahed, N. 2007b. Disinfection, establishment and proliferation in *in vitro* culture of some interspecific hybrids in Prunus genus. Journal of Horticultural Science and Technology 8: 165-174 (in Persian).

Dejampour, J., Majidi, E., Khosravi, S., Farhadi, S., and Shadmehr, A. 2011. *In vitro* propagation of HS314 rootstock (*Prunus amygdulus* × *P. persica*). Horticultural Science 46: 928-931.

Fotopoulos, S., and Sotiropoulos, T. E. 2005. *In vitro* rooting of PR 204/84 rootstock (*Prunus persica* × *P. amygdalus*) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. Agronomy Research 3: 3-8.

Kamali, K., Majidi, A., and Zarghami, R. 2001. Determination of the best culture medium and growth condition for micropropogation of GF677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). Seed and Plant 17: 234-243 (in Persian).

Kamali, K., Majidi, E., and Zarghami, R. 2006. Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). Plant Genetic and Breeding 56: 175-177.

Lloyd, G., and McCown, B. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society 30: 421-427.

Mahdavian, M., Bouzari, N., and Abdollahi, H. 2010. Effect of culture medium and plant growth regulators on proliferation and rooting of Mahlab rootstock (SL 64). Seed and Plant Improvement 26-1 (1): 15-26 (in Persian).

Molassiotis, A., Dimassi, N., Therios, K., and Diamantidis, I. 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*) explants *in vitro*. Biologia Plantarum 47: 141-144.

Nowak, B., Miczynski, K., and Hudy, L. 2004. Sugar uptake and utilisation during adventitious bud differentiation on *in vitro* leaf explants of 'Wegierka Zwykla' plum (*Prunus domestica*). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 76: 255-260.

Perez, O., Burgos, L., and Burgos, T. 2000. Different media requirements for micropropagation of apricut cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63: 133-141.

Pilar, A., and Marin, J. A. 2005. *In vitro* culture establishment and multiplication of the Prunus rootstock 'Adesoto 101' (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulturae 106: 258-267

Pruski, K. W., Lewis, T., Astatkie, T., and Nowak, J. 2000. Micropropagation of chokecherry and pincherry cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 63: 93-100.

Quoirin, M., and Lepoivre, P. 1977. Improved media for *in vitro* culture of *Prunus* sp. Acta Horticulturae 78: 437-442.

Reeves, D. W., Couvillon, G. A., and Horton, B. D. 1985. Effect of gibberellic acid (GA_3) on elongation and rooting of St. Julien A. rootstock *in vitro*. Scientia Horticulturae 26: 253-259.

Rogalski, M., Moraes, L. K., Felisbino, C., Crestani, L., Guerra, M. P., and Silva, A. L. 2003. Acclimatization of micropropagated *Prunus* sp. rootstock. Revista Brasileira de Fruticultura 25: 279-281.

Ruzic, D., Saric, M., Cerovic, R., and Culafic, L. 2003. Contents of macroelements and growth of sweet cherry rootstock *in vitro*. Biology of Plants 47: 463-465.

Zolfagharinasab, R., Khosroshahli, M., Gerigurian, V., and Motalebi Azar, A. 2004. Study on *in vitro* propagation of apricot × plum hybrid. Journal of Horticultural Science and Technology 5: 81-92 (in Persian).