



دانشگاه گیلان

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و نهم، شماره سوم، ۱۳۹۸

۱۶۷-۱۷۷

<http://jopp.gau.ac.ir>

DOI: 10.22069/jopp.2019.15507.2394

افزایش انبوه درون‌شیشه‌ای میروبالان C ۲۹ (*Prunus cerasifera* L.):

یک پایه رویشی برای میوه‌های هسته‌دار

زهرا شعبانی^۱، * بهرام عابدی^۲، ابراهیم گنجی‌مقدم^۳ و علی تهرانی‌فر^۴

^۱ کارشناسی ارشد گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران، ^۲ استادیار گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران،

^۳ دانشیار بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، سازمان تحقیقات،

آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران، ^۴ استادیار گروه باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۶/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۹/۲۰

چکیده

سابقه و هدف: ازدیاد درختان میوه در شرایط درون‌شیشه‌ای یک روش قابل دسترس برای افزایش انبوه است. تکثیر درون‌شیشه‌ای گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی دارای مشکلات بیش‌تری بوده و گیاهان چوبی از نظر باززایی درون‌شیشه‌ای شاخساره‌های نابجا از ریزنمونه و همچنین از نظر ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای سرسخت هستند، از این‌رو گزینش محیط‌های کشت مناسب‌تر برای انگیزش باززایی شاخساره از ریزنمونه‌ها، پرآوری و ریشه‌زایی برای توسعه سیستم ریزازدیادی در درختان میوه ضروری است. هدف اصلی این مطالعه بررسی روش‌های افزایش درون‌شیشه‌ای پایه میروبالان C ۲۹ (یک پایه برای درختان هسته‌دار) بود.

مواد و روش‌ها: این آزمایش به منظور ارزیابی بهترین محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد برای ریزازدیادی پایه میروبالان C ۲۹ به صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل پنج نمونه در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی انجام شد. به منظور پرآوری، محیط کشت در دو سطح (*MS* و *QL*) و غلظت بنزیل آمینوپورین و تیدیاژرون در پنج سطح (۰، ۱، ۲، ۳، ۴ میلی‌گرم در لیتر) در مرحله ریشه‌زایی از دو محیط کشت *QL* و *DKW* و تنظیم‌کننده رشد نفتالین استیک اسید در غلظت‌های (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) و در مرحله سازگاری از بستر کشت، کوکوپیت و پرلایت (۵۰ : ۵۰ حجمی) استفاده شد. در مرحله شاخه‌زایی بعد از سه بار واکشت به فواصل هر سه هفته تعداد گیاهچه، طول گیاهچه و تعداد برگ و در مرحله ریشه‌زایی پس از شش هفته، صفات تعداد و طول ریشه، تعداد برگ، طول ساقه گیاهچه و درصد ریشه‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: نتایج نشان داد بیش‌ترین ضریب تکثیر شاخه با ۳/۴۱ در محیط کشت *MS* حاوی دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین به دست آمد و همچنین بالاترین طول گیاهچه ۲/۵، ۲/۳۳ و ۲/۲۹ سانتی‌متر، به ترتیب در سه غلظت یک، دو و سه میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین مشاهده شد. بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد) و طول ریشه ۲/۱۲ سانتی‌متر در محیط *DKW* به ترتیب در غلظت یک و سه میلی‌گرم در لیتر *NAA*، ثبت شد. سازگاری گیاهچه‌ها با استفاده از سیستم مه‌افشانی، در گلخانه با

* مسئول مکاتبه: abedi@um.ac.ir

موفقیت انجام شد که بیش‌ترین درصد بقای گیاهچه (۵۰ درصد) در محیط *DKW* با یک میلی‌گرم در لیتر *NAA* و در بستر کوکوپیت و پرلایت (۵۰:۵۰ حجمی) به‌دست آمد.

نتیجه‌گیری: ترکیب محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد بر روی پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دار تأثیر دارد. در این آزمایش غلظت بهینه بنزیل آمینو پورین و اسید نفتالین استیک برای پرآوری و ریشه‌زایی میروبالان 29°C ، به‌ترتیب دو و یک میلی‌گرم در لیتر بود. لازم به یادآوری است غلظت بالاتر از دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین و اسید نفتالین استیک برای این گیاه توصیه نمی‌شود. معمولاً تولید ریشه تحت‌تأثیر تولید، سوخت‌وساز و حرکت اکسین در گیاهچه قرار می‌گیرد. بنابراین سازگاری گیاهچه‌ها به‌طور مستقیم با کیفیت ریشه و بیش‌ترین ضریب ریشه‌زایی در ارتباط است.

واژه‌های کلیدی: پرآوری، تنظیم‌کننده رشد ریشه‌زایی، محیط کشت

مقدمه

آلو^۱ یکی از میوه‌های مهم مناطق معتدله است که دامنه پراکندگی آلو و گوجه از سایر میوه‌های خزان‌دار وسیع‌تر است (۸). در گذشته برخی ارقام آلو به راحتی از طریق پاجوش یا قلمه قابل تکثیر بودند، ولی امروزه به‌منظور دستیابی به درختان با اندازه‌های کوچک قابل مدیریت که زودبارده بوده و تولید منظم و با کیفیت داشته باشند پیدا کردن پایه پاکوتاه مناسب ضروری می‌باشد (۷). میروبالان پایه بسیار مهمی است که به‌طور وسیعی برای آلو و گوجه استفاده می‌شود. از ویژگی‌های این پایه می‌توان به سهولت دسترسی، ارزان بودن، محصول‌دهی خوب پس از بلوغ، مقاومت به خشکی و مقاومت نسبی به بیماری پوسیدگی ریشه اشاره کرد. کشت بافت یکی از روش‌های ازدیاد این پایه است. به‌طور کلی کشت بافت گیاهان چوبی نسبت به گیاهان علفی دارای مشکلات بیش‌تری است. گیاهان چوبی (به‌ویژه درختان میوه هسته‌دار) از نظر باززایی درون‌شیشه‌ای شاخساره‌های نابجا از ریزنمونه (به‌ویژه از ریزنمونه‌های بالغ) و همچنین از نظر ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای سرسخت هستند، از این‌رو گزینش محیط کشت مناسب برای انگیزش باززایی

شاخساره از ریزنمونه‌ها، پرآوری و ریشه‌زایی برای توسعه سیستم ریزازدیادی در درختان میوه ضروری است (۱۴).

یدالهی و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر نفتالین استیک اسید و بنزیل آمینو پورین بر پرآوری پایه گزیلا بیش‌ترین تعداد ساقه را در تیمار حاوی یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین مشاهده کردند (۲۲). در بررسی روی ریزازدیادی میروبالان، بیش‌ترین شاخه‌زایی در محیط کشت *QL* که حاوی یک میلی‌گرم در لیتر *BA* بود، مشاهده شد (۱۴). در پژوهشی اثر غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین و تیدیاژرون بر پرآوری شاخساره بادام^۲ مورد بررسی قرار گرفت که بیش‌ترین درصد پرآوری شاخساره در محیط کشت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر تیدیاژرون به‌دست آمد (۱۹). در بررسی یانگ نینگ (۲۰۱۰) و مهدویان و همکاران (۲۰۱۱) روی آلو و محلب^۳ بالاترین درصد ریشه‌زایی در محیط *DKW* به دست آمد و سازگار کردن شاخساره‌های ریشه‌دار شده به شرایط گلخانه‌ای با استفاده از سیستم مه‌افشانی با موفقیت انجام شد (۱۰ و ۲۴). در بررسی‌هایی که روی پایه‌های محلب، گزیلا و بادام انجام شد، غلظت

2- *Prunus. amygdalus*

3- *Prunus. mahaleb*

1- *Prunus. domestica*

آزمایش دوم (مرحله ریشه‌زایی): در این مرحله شاخساره‌های یک تا دو سانتی متری انتخاب شده و به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند. اثرات نوع محیط کشت در دو سطح (*QL* و *DKW*) و غلظت اسید نفتالین استیک در چهار سطح (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفت. پس از شش هفته صفات تعداد و طول ریشه، تعداد برگ، طول ساقه گیاهچه و درصد ریشه‌زایی بررسی گردید.

آزمایش سوم (مرحله انتقال و سازگاری): برای انتقال گیاهان به گلدان و سازگار نمودن آن‌ها با شرایط محیطی، پیش از کاشت گلدان‌ها و بسترهای کشت ضدعفونی شدند. بستر کشت، کوکوپیت و پرلایت (۵۰ : ۵۰ حجمی) بود. گیاهان پس از انتقال به گلدان در داخل ظرف‌هایی با سر پوش شفاف و دارای سوراخ در دستگاه مه‌افشان قرار داده شده، هفته اول پس از انتقال هر روز سرپوش‌ها به مدت ۵ دقیقه برای هوادهی برداشته شد. از هفته دوم گیاهچه‌ها با محلول غذایی *MS* ۱/۲ تغذیه شدند و مدت هوادهی به ۱۵ دقیقه در روز افزایش یافت. سپس با بازکردن تدریجی سوراخ‌ها و حذف سرپوش‌ها به تدریج گیاهان با شرایط محیطی جدید سازگار شدند. درصد بقا گیاهچه‌های به روش زیر به دست آمد:

$$(۱) \quad \text{تعداد گیاهچه‌های سازگار شده} \times ۱۰۰ = \frac{\text{تعداد گیاهچه‌های بقا}}{\text{تعداد کل گیاهچه‌ها}}$$

محاسبات آماری: پس از ثبت داده‌ها در نرم‌افزار EXCEL، تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP و مقایسه میانگین با آزمون HSD انجام شد.

یک میلی‌گرم بر لیتر اسید نفتالین استیک بیش‌ترین ریشه‌زایی را دارا بود و گیاهچه‌هایی که کیفیت ریشه بالایی داشتند، بهترین سرعت القا در مرحله سازگاری را نشان دادند (۴، ۱۹ و ۲۱).

این مطالعه با هدف بررسی اثر محیط کشت، غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و سازگاری پایه میروبالان C ۲۹ از طریق کشت بافت به منظور کاهش هزینه‌های تکثیر آن، در قالب سه آزمایش مستقل انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش اول (مرحله شاخه‌زایی): در این آزمایش از ریزنمونه‌های (جوانه‌های جانبی شاخه یک‌ساله) پایه میروبالان C ۲۹ که پس از ضدعفونی در اتانول ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سه مرتبه شست و شو با آب مقطر و سپس ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه و سه مرتبه شست و شو با آب مقطر و استقرار در محیط پایه *MS* و بعد سه هفته جوانه فعال شدند که جوانه‌های فعال شده به محیط شاخه‌زایی برای تکثیر منتقل شده بودند، استفاده شد. تیمارهای مورد بررسی شامل: محیط کشت در دو سطح (*MS* و *QL*) و غلظت بنزیل آمینوپورین و تیدیاورن در پنج سطح (۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم بر لیتر) بود. ریزنمونه‌ها بعد از کشت به اتاقک رشد با دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و هشت ساعت تاریکی با میزان نور ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار (هر تکرار شامل پنج ریز نمونه) به اجرا در آمد. بعد از سه بار واگشت به فواصل هر سه هفته، ضریب تکثیر (تعداد شاخه تقسیم بر تعداد ریز نمونه)، طول گیاهچه و تعداد برگ مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

مرحله پرآوری

ضریب تکثیر: طبق جدول تجزیه واریانس بین محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر متقابل بین آنها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد در مقدار شاخه‌زایی گیاهچه‌ها مشاهده شد (جدول ۱). مقایسه میانگین شاخه‌زایی نشان داد بیش‌ترین ضریب تکثیر به میزان ۳/۴۱ شاخه در محیط کشت *MS* حاوی دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین و کم‌ترین ضریب تکثیر به میزان ۰/۵۹ شاخه در محیط کشت *QL* با سه میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین تشکیل شد (جدول ۲). در بررسی پایه *GF677* بیش‌ترین پرآوری در محیط *MS* با یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین به دست آوردند (۹). دانشور حسینی (۲۰۰۹) در ریزازدیادی پایه محلب بهترین نتیجه را در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین گزارش کرده‌اند (۳).

ترکیب محیط کشت بر روی پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دار تأثیر دارد، به‌طوری‌که پس از انجام واکنش‌های متعدد، تعداد شاخساره در محیط *QL* در مقایسه با محیط *MS* و *WPM* به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (۱). غلظت عناصر غذایی ازت، پتاسیم، منیزیم و همه عناصر پرمصرف در محیط کشت *WPM*، *DKW* و *QL* نسبت به محیط *MS* کم‌تر است که این امر در کاهش پرآوری در این محیط‌های کشت تأثیرگذار است (۶). اما با در نظر گرفتن تأثیر نوع رقم بر درصد شاخه‌زایی، پایه میروبالان C ۲۹ بیش‌ترین شاخه‌زایی در محیط *MS* داشتند. این نتایج نشان‌دهنده واکنش متفاوت ارقام به محیط‌های کشت و شرایط کشت می‌باشد.

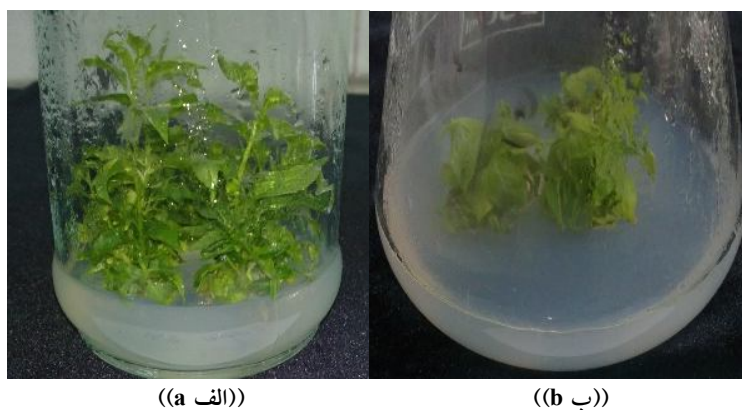
میانگین طول گیاهچه: بررسی نتایج حاصل از برهمکنش نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر طول گیاهچه تشکیل شده در مرحله پرآوری

نشان داد که بین محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثرات متقابل بین آنها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین طول گیاهچه تحت تأثیر اثر متقابل غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع محیط کشت نشان داد، بیش‌ترین طول شاخه به‌میزان ۲/۵، ۲/۳۳ و ۲/۲۹ سانتی‌متر، در محیط کشت *MS* حاوی غلظت یک، دو و سه میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین تشکیل شد و کم‌ترین طول شاخه به‌میزان ۰/۴۵، ۰/۵۵، ۰/۶۰ و ۰/۵۰ سانتی‌متر در محیط *QL* با غلظت صفر، یک، دو و چهار میلی‌گرم در لیتر تیدیاژرون به‌دست آمد. رازیک و همکاران (۲۰۱۳) و مویسو و همکاران (۲۰۱۱) در ریز ازدیادی پایه میروبالان گزارش کردند محیط *MS* با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین بیش‌ترین تعداد شاخه را دارا است (۱۲ و ۱۷). با افزایش غلظت بنزیل آمینو پورین در محیط *MS* از یک میلی‌گرم در لیتر به دو میلی‌گرم در لیتر شاخساره‌های بیشتر و طول‌تری نسبت به محیط کشت *DKW* تولید شدند (۲۰). در این پژوهش نیز با افزایش غلظت بنزیل آمینو پورین، تعداد شاخساره تولید شده از هر ریزنمونه در *MS* افزایش یافت، به‌طوری‌که بالاترین میانگین تعداد شاخساره با دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین در محیط *MS* به‌دست آمد (شکل ۱ و جدول ۲).

میانگین تعداد برگ: طبق جدول تجزیه واریانس بین محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثرات متقابل بین آنها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۱). نتایج بررسی میانگین تعداد برگ گیاهچه تحت اثر متقابل غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع محیط کشت نشان داد بیش‌ترین تعداد برگ (۱۱/۳۳ عدد برگ در گیاهچه) در محیط *MS* با دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین و کم‌ترین تعداد برگ (چهار عدد برگ در گیاهچه) در محیط

آمده بنابراین می‌توان چنین بیان نمود با افزایش تعداد شاخه، تعداد برگ نیز افزایش نشان داد.

QL با یک و دو میلی‌گرم در لیتر تیدیاژرون به دست آمد. با توجه به این‌که تعداد بیش‌تری شاخه در محیط MS با دو میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین به دست



شکل ۱- پرآوری میروبالان ۲۹C، الف) محیط کشت MS با ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP. ب) محیط QL با ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP.
 Fig. 1. Myrobalan 29 C proliferation. a) MS medium with 2 mgL⁻¹ of BAP. b) QL medium with 3 mgL⁻¹ of BAP.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد بر صفات ضربت تکثیر، طول گیاهچه و تعداد برگ.

Table 1. Analysis of variance of interaction of culture media and growth regulator on Proliferation Ratio, Shoot length and Leaf number.

میانگین مربعات Mean Square			درجه آزادی DF	منبع تغییرات Source
تعداد برگ Leaf number	طول گیاهچه Shoot length	ضربت تکثیر Proliferation Ratio		
53.59**	12.61**	1.13**	1	محیط کشت Culture medium
15.51**	0.75**	5.30**	9	تنظیم‌کننده رشد Growth regulator
7.23**	0.21**	1.23**	9	محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد Culture medium × Growth regulator
13.37	12.46	7.35	39	خطا Error
14.23	11.24	13.14		ضربت تغییرات (درصد) CV%

**، * و ^{ns} به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۱٪، ۵٪ و معنی‌دار نبودن است.

**، * and ^{ns} respectively indicate a meaningful level of 1%, 5% and not significant.

جدول ۲- برهمکنش نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر ضریب تکثیر، تعداد برگ و طول گیاهچه در مرحله پرآوری.

Table 2. Interaction between kind of culture medium and growth regulators on the proliferation ratio, plantlets length and leaf number in proliferation phase.

TDZ			BAP			تنظیم‌کننده رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth regulator (mg/L)	محیط کشت Culture medium
تعداد برگ Leaf number	طول گیاهچه (سانتی‌متر) plantlets length (cm)	ضریب تکثیر Proliferation Ratio	تعداد برگ Leaf number	طول گیاهچه (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	ضریب تکثیر Proliferation Ratio		
6.31 ^b	1.49 ^a	1.08 ^{bc}	7.91 ^c	1.45 ^{cd}	1.00 ^{ef}	0	
6.66 ^b	1.49 ^a	1.66 ^b	10.16 ^{a-b}	2.50 ^a	3.24 ^{ab}	1	
7.16 ^a	1.53 ^a	2.08 ^{ab}	11.33 ^a	2.33 ^a	3.41 ^a	2	MS
4.74 ^d	1.33 ^{ab}	1.66 ^b	9.66 ^b	2.29 ^a	1.99 ^c	3	
5.49 ^c	1.09 ^{ab}	2.63 ^a	9.41 ^b	1.84 ^b	1.99 ^c	4	
5.50 ^c	0.60 ^{bc}	1.00 ^c	5.91 ^d	0.93 ^e	1.04 ^e	0	
4.00 ^{de}	0.55 ^{bc}	1.00 ^c	4.91 ^e	0.88 ^{ef}	1.04 ^e	1	
4.00 ^{de}	0.45 ^{bc}	1.00 ^c	5.66 ^{de}	0.70 ^f	1.99 ^c	2	QL
6.50 ^b	0.93 ^b	1.00 ^c	5.74 ^{de}	0.96 ^e	0.59 ^g	3	
4.50 ^d	0.50 ^{bc}	1.00 ^c	4.83 ^e	0.87 ^{ef}	1.80 ^{cd}	4	

بر طبق آزمون HSD میانگین دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ می‌باشند.

According to the HSD test the mean in each column, with at least one similar letters are significant difference at the 5% level.

مرحله ریشه‌زایی

درصد ریشه‌زایی: نتایج حاصل از برهمکنش نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله ریشه‌زایی نشان داد که اثر ساده محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد بر درصد ریشه‌زایی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی در مورد اثر متقابل تیمارها بر درصد ریشه‌زایی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۳). بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد) در محیط *DKW* با یک میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به‌دست آمد و کم‌ترین درصد ریشه‌زایی (۱/۴۹ و ۲/۰۰ درصد) در محیط *QL* و *DKW* فاقد هورمون به‌دست آمد (جدول ۴).

درصد وجود دارد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین بر تعداد ریشه تحت اثر متقابل غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع محیط کشت نشان داد محیط *DKW* همراه با یک میلی‌گرم در لیتر *NAA* بهترین تیمار با تعداد ریشه (۶/۷۵) بود. در حالی‌که کم‌ترین تعداد ریشه (۱/۷۵) در ترکیب تیمار محیط کشت *QL* همراه با یک میلی‌گرم در لیتر *NAA* به‌دست آمد (شکل ۲)، (جدول ۴).

طول ریشه: طبق جدول تجزیه واریانس بین محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثرات متقابل بین آن‌ها بر طول ریشه تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین طول ریشه تحت تأثیر اثر متقابل نوع محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد نشان داد گیاهچه‌ها در محیط *DKW* حاوی سه میلی‌گرم در لیتر *NAA* دارای بیش‌ترین

تعداد ریشه: تجزیه واریانس صفت موضوع مطالعه نشان داد بین محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثرات متقابل بین آن‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح یک

گیلاس^۱ نشان داد ترکیب اسید نفتالین استیک به تنهایی نسبت به ترکیب اسید نفتالین استیک با اسید ایندول بوتریک ریشه‌زایی بیش‌تری را دارد و همچنین پانچیا بر روی گونه دیگری از همین جنس برتری اسید نفتالین استیک را گزارش کرد. این اسید نسبت به اسید ایندول بوتریک باعث افزایش میانگین تعداد ریشه می‌شد (۱۵ و ۲۳). علاوه بر این اسید نفتالین استیک سطح هورمون‌های درونی‌زا در مرحله ریشه‌زایی بالا می‌برد و ممکن است به‌عنوان کوفاکتوری برای ریشه‌زایی عمل کند با وجودی که معمولاً استفاده از اسید نفتالین استیک در محیط ریشه‌زایی به ایجاد پینه منجر می‌شود، اما در این آزمایش گیاهچه‌های قرار گرفته در محیط کشت حاوی اسید نفتالین استیک پینه‌زایی نکرده و تعداد ریشه بیش‌تری نیز تولید کردند و کیفیت مطلوبی داشتند. هورمون‌های طبیعی و درون‌زا در نهایت می‌توانند ریشه‌زایی بهتری را القا کنند (۱۱). در بررسی حاضر با افزایش غلظت اسید نفتالین استیک میانگین تعداد ریشه افزایش یافته در توضیح این مطلب می‌توان چنین بیان کرد هرچه تعداد ریشه در هر ریز نمونه زیاد باشد از میانگین طول ریشه کاسته می‌شود و افزایش تعداد ریشه در هر ریز نمونه می‌تواند با تأثیر بر جذب بیش‌تر آب و مواد غذایی از محیط کشت، طول ساقه گیاهچه‌ها را افزایش دهد (۲۵).

طول ریشه (۲/۱۲ سانتی‌متر) و در محیط *QL* فاقد هورمون کم‌ترین طول (۰/۵۰) را دارا بودند (جدول ۴). با افزایش غلظت هورمون از طول ساقه گیاهچه کاسته شده است و طول ریشه‌ها افزایش یافته است (جدول ۴).

میانگین تعداد برگ: طبق جدول تجزیه واریانس نوع محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد بر تعداد برگ گیاهچه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود اثر متقابل بین آن‌ها تأثیر معنی‌داری نداشت (جدول ۳). طبق بررسی نتایج مقایسه میانگین بیش‌ترین تعداد برگ (۱۲/۷۵ عدد برگ در گیاهچه) در محیط *DKW* با یک میلی‌گرم در لیتر اسید نفتالین استیک و کم‌ترین تعداد برگ (۰/۷۷ عدد برگ در گیاهچه) در محیط *QL* با دو میلی‌گرم در لیتر اسید نفتالین استیک به‌دست آمد (جدول ۴).

طول ساقه گیاهچه: طبق جدول تجزیه واریانس نوع محیط کشت، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثرات متقابل بین آن‌ها بر طول ساقه گیاهچه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد بیش‌ترین طول ساقه به‌میزان ۶/۷۵ سانتی‌متر در محیط *DKW* حاوی یک میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید و کم‌ترین طول ساقه ۱/۵۰ سانتی‌متر در محیط *QL* فاقد هورمون و غلظت یک میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید مشاهده گردید (جدول ۴). نتایج همچنین نشان داد با افزایش غلظت اکسین در محیط کشت، از طول ساقه گیاهچه کاسته شده است در توضیح این موضوع عنوان شده هورمون‌های اکسینی افزوده شد به محیط در تسریع رشد یا صدور شاخه‌های جدید اثری ندارند در واقع به رشد عمومی گیاه تعادل می‌بخشد. یانگ (۱۹۹۴) در پژوهشی بروی



شکل ۲- اثر غلظت‌های *NAA* در محیط *DKW* بر تعداد ریشه *Myrobalan 29C* (الف) ۰ میلی‌گرم در لیتر، (ب) ۱ میلی‌گرم در لیتر، (ج) ۲ میلی‌گرم در لیتر و (د) ۳ میلی‌گرم در لیتر.

Fig. 2. The effect of *NAA* concentrations in *DKW* media on the root number *Myrobalan 29C*. a) 0 mg l^{-1} , b) 1 mg l^{-1} , c) 2 mg l^{-1} and d) 3 mg l^{-1} .

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده رشد بر صفات درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد برگ گیاهچه و طول ساقه گیاهچه.

Table 3. Analysis of variance of interaction of culture media and growth regulator on Percent Root, Root number, Root length, Leaf number plantlets and plantlets stem length.

میانگین مربعات Mean Square						درجه آزادی DF	منبع تغییرات Source
درصد بقا survival percent	طول ساقه گیاهچه Plantlets stem length	تعداد برگ گیاهچه Leaf number plantlets	طول ریشه Root length	تعداد ریشه Root number	درصد ریشه‌زایی Percent Root		
50.12*	138.48**	296.02**	612.22**	30.29**	3.75**	1	محیط کشت Culture medium
24.52*	23.58**	10.14**	48.42**	17.85**	12.75**	3	تنظیم‌کننده رشد Growth regulator
15.45*	10.52**	4.86 ^{ns}	19.72**	4.49**	1.41 ^{ns}	3	محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد Culture medium × Growth regulator
13.58	22.25	18.41	10.51	9.41	12.37	27	خطا Error
19.25	32.14	29.96	31.49	22.50	19.75		ضریب تغییرات (درصد) CV%

**، * و ^{ns} به ترتیب بیانگر معنی‌دار بودن در سطح ۱٪، ۵٪ و معنی‌دار نبودن است.

**، * and ^{ns} respectively indicate a meaningful level of 1%, 5% and not significant.

جدول ۴- برهمکنش نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده های رشد بر درصد ریشه زایی، تعداد شاخه، طول شاخه، طول ساقه گیاهچه و تعداد برگ در مرحله ریشه زایی میروبالان ۲۹C.

Table 4. Interaction kind of culture medium and growth regulators on rooting plantlets, root percent, number and root length, leaf number and plantlets stem length in rooting phase Myrobalan 29C.

NAA						
طول ساقه گیاهچه (سانتی متر) Stem length plantlets (cm)	تعداد برگ گیاهچه Leaf number plantlets	طول ریشه (سانتی متر) Root length (cm)	تعداد ریشه Root number	درصد ریشه زایی Percent Root	تنظیم کننده رشد (میلی گرم در لیتر) growth regulators (mg/L)	محیط کشت Culture medium
5.35 ^{bc}	9.50 ^c	1.00 ^f	2.75 ^c	1.49 ^{es}	0	DKW
6.62 ^a	12.75 ^a	1.12 ^c	6.75 ^a	100.00 ^a	1	
3.87 ^c	9.50 ^c	2.00 ^b	4.25 ^b	68.56 ^c	2	
5.85 ^b	10.50 ^b	2.12 ^a	4.25 ^b	81.25 ^b	3	
1.50 ^{ef}	5.75 ^d	0.50 ^g	0.52 ^f	2.00 ^e	0	QL
1.50 ^{ef}	5.75 ^d	1.62 ^d	1.75 ^e	33.33 ^d	1	
1.87 ^e	0.77 ^c	1.87 ^c	2.00 ^d	33.33 ^d	2	
2.25 ^d	5.25 ^{de}	1.12 ^c	2.75 ^c	43.03 ^{cd}	3	

بر طبق آزمون HSD میانگین دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ می باشد.

According to the HSD test the mean in each column, with at least one similar letters are significant difference at the 5% level.

گیاه است و در شرایط درون شیشه ای زمانی که میزان رطوبت بالا باشد تعرق گیاه و در نتیجه جذب کلسیم کاهش پیدا کرده و قهوه ای شدن و مرده شدن بافت ها در نتیجه تجزیه و تخریب یاخته ها رخ می دهد (۲، ۱۳ و ۱۶). کیفیت گیاهچه در مرحله سازگاری نقش مهمی دارد. در این پژوهش از محیط *DKW* به دلیل داشتن نیترات کم باعث کاهش رشد رویشی شده و گیاهچه های دچار این نارسایی ها نشدند و اسید نفتالین استیک با افزایش تعداد ریشه در هر ریزنمونه می تواند با تأثیر بر جذب بیش تر آب و مواد غذایی از محیط کشت، طول ساقه گیاهچه ها را افزایش دهد. این دو عامل باعث شده گیاهچه ها در این مرحله در گلدان های حاوی بستر ضد عفونی شده کوکوپیت و پرلیت سازگاری موفق داشته باشند (۴ و ۱۳). این یافته ها با نتایج هانگ (۲۰۰۳) و سدلاک (۲۰۰۳) بر روی پایه گزیلا ۶ که درصد بقا حدود ۸۰ و ۷۹/۲ درصد است، مطابقت دارد (۱۸ و ۲۳).

سازگاری: طبق نتایج مربوط به اثر برهمکنش نوع محیط کشت و تنظیم کننده های رشد بر درصد بقای گیاهچه ریشه دار شده، بین محیط کشت، تنظیم کننده های رشد و اثر متقابل بین آن ها تفاوت معنی داری در سطح پنج درصد مشاهده شد (جدول ۳). طبق بررسی مقایسه میانگین بیش ترین درصد زنده مانده به میزان (۵۰ درصد) در محیط *DKW* با یک میلی گرم در لیتر اسید نفتالین استیک دیده شد و کم ترین درصد زنده مانده در محیط *QL* با غلظت صفر، یک، دو و سه میلی گرم در لیتر اسید نفتالین استیک به دست آمد (جدول ۵).

در این پژوهش مشخص شد که نوع محیط کشت تأثیر به سزایی بر سلامت گیاهچه ها و در نتیجه استقرار موفق ریزنمونه ها داشت. کلسیم عنصری است که نقش بسیار مهمی در ساختار دیواره یاخته ای دارد، ولی دارای تحرک بسیار کمی در داخل بافت گیاهی بوده و بازده و حرکت آن در داخل گیاه تابع تعرق

جدول ۵- برهمکنش نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد بقای گیاهچه میروبالان ۲۹C.

Table 5. Interaction kind of culture medium and growth regulator on the survival percent plantlets Myrobalan 29C.

NAA	درصد بقا Survival percent	
	تنظیم‌کننده رشد (میلی‌گرم در لیتر) growth regulators (mg/L ⁻¹)	محیط کشت culture medium
1.33 ^{d*}	0	DKW
50.00 ^a	1	
12.50 ^c	2	
39.53 ^b	3	QL
1.33 ^d	0	
3.55 ^d	1	
1.33 ^d	2	
5.32 ^d	3	

بر طبق آزمون HSD میانگین دارای حروف مختلف در هر ستون بیانگر اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد می‌باشند.

According to the HSD test the mean in each column, with at least one similar letters are significant difference at the 5% level.

افزایش میزان *BAP* و *NAA* محیط تعداد شاخه‌ها و ریشه‌ها کاهش یافت اما طول شاخه و ریشه افزایش یافت. در این آزمایش بیش‌ترین درصد بقای گیاهچه در محیط *DKW* حاوی یک میلی‌گرم در لیتر *NAA* اتفاق افتاد.

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج حاصل از پژوهش می‌توان نتیجه گرفت که محیط *MS* و *DKW* محیط مناسبی برای پایه میروبالان ۲۹C می‌باشد. پایه میروبالان ۲۹C در غلظت‌های نسبتاً بالای *BAP* و *NAA* به‌ترتیب از شاخه‌زایی و ریشه‌زایی پایینی برخوردار است. با

منابع

1. Andreu, P. and Marin, J.A. 2005. *In vitro* culture establishment and multiplication of the *prunus*. Acta Hort. Pp: 15-20.
2. Channuntapipat, Ch., Sedgley, M. and Collins, G. 2003. Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and Ne Plus Ultra and the hybrid rootstock *Titan* × *Nemagard*. Sci. Hort. 98: 473-484.
3. Daneshvar Hossini, A., Ganji Moghadam, E. and Anahid, S. 2010. Effects of media cultures and plant growth regulators in micropropagation of *Gisela6* rootstock. A. Bio. Res. 1: 135-141. (In Persian)
4. Demiral, S. and Ulger, S.A. 2008. Research on propagation of *Gisela 5* cherry rootstock by tissue culture. Akd. Uni. Zir Fac. 21: 117-121.
5. Huang, V.J. 2003. *In vitro* propagation of dwarf cherry rootstock *Gisela*. J. Nat. Sci. 26: 2. 161-164.
6. Izad Panah, Sh. 2004. The effects of age and genotype on the way propagation Sweet Cherry (*Prunus avium*) *in vitro*. Nat. Sou. 64: 63-70. (In Persian)
7. Ganji Moghadam, E. and Abdollahzadeh, A. 2009. Guide fruit trees rootstock (Translate). AREEO. Pp: 155-184. (Edited book). (In Persian)
8. Ganji Moghadam, E., Bolandi, H.R. and Anahid, S. 2008. *In vitro* multiplication of four genotypes dwarf selected *Mahalab*. Res. Deve. Nat. Res. 79: 55-61. (In Persian)

9. Kamali, K., Majidi, A. and Zarghami, R. 2002. Determine the most suitable culture medium and growth conditions micropropagation of vegetative GF677 (*hyberid Paech × Almound*) rootstock. J. Sap. Seed. 17: 38-47. (In Persian)
10. Mahdavyan, M., Bozari, N. and Abdollahi, H. 2010. Effect of media and plant growth regulators on proliferation and rooting Mahaleb (*Sent losi 64*) of vegetative rootstock. J. Sap. Seed. 1: 15-26. (In Persian)
11. Mohamed, A. 2012. Establishment of regeneration system for Taif peach (*Prunus persica* L. *Batsch*) cultivar (*Balady cultivar*) in Taif, KSA. J. Am. Sci. 8: 4. 232-239.
12. Movsiuw, A. 2011. *In vitro* propagation of virus-free *Myrobalan 29C* rootstock. GRI. 7349: 101-102.
13. Perez-Tornero, O. and Lopez, J.M. 2000. Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*prunus armenica* L.) cv. Cannino. J. Hort. Sci. Bio. 75: 283-286.
14. Plopa, C., Dutu, N., Isac, V., Mazilu, C. and Ancu, S. 2010. Factors influencing *in Vitro* propagation of Myrobalan dwarf Plum root stock. ISHS. Acta. Hort. 966: 221-223.
15. Punchia, G. 1992. Research on *in vitro* propagation of *Prunus laurocerasus* cv. Otto Layken. Aca. Hort. 300: 177-186.
16. Ruzic, D., Saric, M., Cerovic, R. and Culafic, L. 2001. Change in macro element content of the media and in sweet cherry in mil GM 9 shoots during *in vitro* culture. J. Hort. Sci. Bio. 78: 295-299.
17. Ruzic, D.V. and Vajovic, T.I. 2013. The effect of cytoknins types and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry. Hort. Sci. 35: 12-21.
18. Sedlak, J. and Paprstein, F. 2003. Influence of growth regulator on *in vitro* propagation of *pyrus communis* c.v. koporeka. Acta. Hort. 616: 379-382.
19. Shekafandeh, A. and Qasemi, M. 2008. Effects of *BA* and *TDZ* on bud growth and somatic embryogenesis of immature almond (*Prunus dulcis* L.) blooming late shahrody varieties 7. J. Hort. Sci. 2: 148-152. (In Persian)
20. Soleymanpor, A. and Bozari, N. 2012. Effect of media and plant growth regulators in micro propagation Mahaleb (*SL-64*) of vegetative rootstock. STGI. 12: 1-5. 9. (In Persian)
21. Tatari, M. and Mosavi, A. 2013. Evaluation *in vitro* culture of vegetative Tetra, Nemagard and GF677 rootstock. Bu. Agric. 3: 103-115. (In Persian)
22. Yadollahi, A., Nazari Moghadam Aghaee, R. and Moeeni, A. 2009. Effect composition *BAP* and *NAA* on proliferation Gisela rootstock. STGI. 3: 1-5. (In Persian)
23. Yang, H.Y. and Schmitid, H. 1994. Influneece of different auxin on *in vitro* sweet cherry cultivares. Agric. Sci. 59: 1. 45-47.
24. Ying-Ning, Z. 2010. Micropropagation of chinese plum (*Prunus salicina* Lindl.) using mature stem segments. Not. Bot. Hort. Agric. Clu. 38: 3. 214-218.
25. Zolfaghari Nasab, R., Khosroshahi, M., Gergoryan, V. and Matlabi Azar, A. 2005. Study *in vitro* natural hybrid *Apricot × Plum*. J. Hort. Sci. Tec. I. 5: 81-92. (In Persian)

