

ریزادیدادی تعدادی از پایه‌های رویشی درختان میوه هسته‌دار

Micropropagation of some Clonal Rootstocks of Stone Fruits

مریم تاتاری ورنوسفادرانی^۱، سیداصغر موسوی^۲ و ناصر بوذری^۳

^۱ و ^۳ - به ترتیب کارشناس و استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
^۲ استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال بختیاری، شهرکرد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۶/۲۴

چکیده

تاتاری ورنوسفادرانی، م.، موسوی، س.ا.، و بوذری، ن. ۱۳۹۱. ریزادیدادی تعدادی از پایه‌های رویشی درختان میوه هسته‌دار. مجله به‌نژادی نهال و بذر ۱-۲۸: ۶۶-۵۳.

در این بررسی ازدیاد سه پایه رویشی درختان هسته‌دار شامل VPK1، سنت جولین A و GF677 با استفاده از روش درون شیشه‌ای مورد ارزیابی قرار گرفت. ابتدا ریز نمونه‌های جوانه انتهایی و جوانه‌های جانبی این پایه‌ها گندزدایی و در شرایط درون شیشه‌ای و در محیط‌های کشت MS تغییر یافته، WPM و Knop کشت شدند. نتایج حاصل از نوع محیط کشت نشان داد که پایه رویشی VPK1 بیشترین تعداد گیاهچه را در محیط WPM و بیشترین طول گیاهچه را در محیط کشت MS تغییر یافته تولید کرد. دو پایه رویشی دیگر بیشترین تعداد و طول گیاهچه را در محیط کشت MS تغییر یافته تولید کردند. پایه رویشی VPK1 در محیط‌های WPM و Knop و پایه رویشی سنت جولین A در محیط Knop علائم کلروز را نشان دادند. لذا ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت MS تغییر یافته مورد ارزیابی قرار گرفت. بیشترین افزونگرمی متعلق به پایه رویشی سنت جولین A در محیط MS3 (۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA) بود. پرآوری مطلوب در پایه‌های رویشی GF677 و VPK1 در محیط MS1 (۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA) حاصل شد. در هر سه پایه مورد مطالعه بیشترین طول گیاهچه در محیط کشت MS1 به دست آمد. پایه رویشی VPK1 در محیط‌های MS2 (۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA) و MS3، تولید کالوس کرد. همچنین افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در پایه GF677 تولید کالوس و شیشه‌ای شدن اندام‌های هوایی را به دنبال داشت. پایه‌های سنت جولین A و VPK1 در محیط دارای ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و پایه GF677 در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA ریشه‌هایی با طول بیشتر تولید کردند. در محیط ریشه‌زایی، پرآوری پایه‌های رویشی نیز مشاهده شد و اثر پایه رویشی بر میانگین تعداد ریشه معنی‌دار نبود. پایه‌های ریشه‌دار شده در اتاق سازگاری به محیط کشت پیت و پرلیت منتقل شدند.

واژه‌های کلیدی: پایه رویشی، درختان هسته‌دار، ریزادیدادی.

مقدمه

اغلب پایه‌های مورد استفاده برای درختان میوه هسته‌دار در ایران بذری و غیر یکنواخت بوده و درختان پیوند زده شده روی این پایه‌ها از نظر رشد رویشی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها یکسان نیستند و این امر مشکلات متعددی را در عملیات باغبانی ایجاد می‌کند. به دلیل اهمیت روزافزون پایه‌های رویشی، ضروری است نسبت به ازدیاد این پایه‌ها به صورت هم‌گروه اقدام شود. یکی از روش‌های ازدیاد سریع و هم‌گروه‌سازی ارقام و پایه‌های مطلوب، استفاده از کشت درون شیشه‌ای اندام‌های مختلف گیاهان است. با استفاده از روش ریزازدیادی و کشت جوانه، باززایی و تولید در بسیاری از گونه‌های گیاهی قابل انجام است. در تحقیقاتی که اخیراً انجام شده است، 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 تنظیم‌کننده‌های رشد (Pruski *et al.*, 2000) در ازدیاد درختان میوه هسته‌دار مورد بررسی قرار گرفته است. در پژوهشی اثر ویتامین ریوفلاوین (B2) بر ریشه‌زایی درون شیشه‌ای هیبرید هلو-بادام (GF667) مورد بررسی قرار گرفت. چهار هفته پس از کشت، ریوفلاوین منجر به تحریک ریشه‌های نابجا شد و ریشه‌دهی، در مقایسه با

تیمار شاهد خیلی ضعیف بود. در غلظت‌های بالای ریوفلاوین نیز نشانه‌های کلروز مشاهده شد (Antonopoulou *et al.*, 2007). به گزارش روزیک و همکاران (Ruzic *et al.*, 2003) ترکیب محیط کشت و غلظت نمک‌ها نقش مهمی را در ریزازدیادی پایه گیلاس بازی می‌کند و در محیط کشت MS با نصف غلظت عناصر میکرو، رشد گیاهچه‌های گیلاس افزایش پیدا کرد. در پژوهش دیگری مشخص شد، افزودن پرولین به محیط ریشه‌زایی، در تولید ریشه از ارقام سخت ریشه‌زای آلبالو مفید است (Battistini and Paoli, 2002). اثر آهن آلی (Fe-EDTA و Fe-EDDHA) و آهن معدنی (FeCl₂) 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 FeCl₂ ریشه‌زایی کمتر بود. در محیط حاوی Fe-EDTA، ریشه‌های تشکیل نشد (Molassiotis *et al.*, 2003). به گزارش رگالسکی و همکاران (Rogalski *et al.*, 2003) بیشترین پرآوری آلوی سانتارزا در محیط حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و بیشترین ارتفاع شاخساره در محیط دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حاصل شد. کمالی و همکاران (Kamali *et al.*, 2006) گزارش کردند پرآوری ژنوتیپ‌های بذری در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و

گرفت. ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید

(NAA) حاصل شد. مطلوب ترین محیط برای

طویل شدن ریزنمونه‌های GF677 در محیط

کشت Knop حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر BA

و برای ژنوتیپ‌های بذری محیط کشت MS با

همین غلظت از BA بود. در پژوهشی آلوی

Bistrica که به عنوان پایه برای زردآلو به کار

می‌رود، به صورت درون شیشه‌ای ازدیاد شد.

بیشترین پرآوری شاخساره روی محیط کشت

MS با ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر BAP و

۰/۱ میلی گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید

(IBA) حاصل شد. افزودن ۰/۱ و ۰/۵ میلی گرم

در لیتر GA₃ افزایشی در پرآوری

و طول شاخساره ایجاد نکرد

(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).

مهم ترین صفت بارز پایه رویشی VPK1

(*P. cerasifera*) مقاومت بالای آن نسبت به

سرما زمستان است. سنت جولین A

(*P. insititia*) نیز پایه‌ای نیمه پاکوتاه است و

درختی با اندازه ۸۰ تا ۸۵ درصد درختان

استاندارد تولید می‌کند و با ارقام مختلف هلو،

شلیل، آلو و گوجه سازگار است

(Beckman and Lang, 2003). در این

پژوهش ازدیاد درون شیشه‌ای این دو پایه با پایه

رویشی GF677 مورد مقایسه و بررسی قرار

مواد و روش‌ها

در این تحقیق ازدیاد پایه‌های رویشی

VPK1، سنت جولین A و GF677 از طریق

ریزازدیادی مورد بررسی قرار گرفت. پایه‌ها در

فروردین ۱۳۸۷ از کلکسیون پایه‌های رویشی

درختان میوه هسته‌دار واقع در ایستگاه تحقیقات

کمال‌آباد بخش تحقیقات باغبانی تهیه شدند.

ابتدا ریزنمونه‌های جوانه انتهایی و جوانه‌های

جانبی پایه‌های مورد مطالعه در محلول

۵۰ درصد وایتکس (با ۲/۵ درصد ماده موثره)

به مدت ۱۵ دقیقه گندزدایی شده و در شرایط

درون شیشه‌ای و در محیط کشت MS تغییر

یافته، WPM (Woody Plant Medium) و

Knop، هر کدام حاوی ۰/۶ میلی گرم در لیتر

BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA قرار داده

شدند. نمونه‌ها در دمای ۱°C ± ۲۶ و شرایط

۱۶ ساعت روشنایی (۱۵۰۰ لوکس از منبع نور

فلورسنت) و ۸ ساعت تاریکی، در اتاقک رشد

قرار گرفتند. پایه‌های استقرار یافته به منظور

پرآوری در همین محیط‌ها باز کشت شدند.

پس از انتخاب بهترین محیط کشت،

گیاهچه‌ها به محیط حاوی غلظت‌های مختلف

تنظیم کننده‌های رشد BAP و NAA (ترکیب

اول: ۰/۶ میلی گرم در لیتر BAP و

۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA، ترکیب دوم:

۰/۸ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در

لیتر NAA، ترکیب سوم: ۱ میلی گرم در لیتر

استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

انتخاب محیط کشت

ترکیبات و ویتامین‌های موجود در محیط کشت MS تغییر یافته که در این بررسی مورد استفاده قرار گرفت در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر پایه رویشی و محیط کشت بر تعداد و طول گیاهچه در سطح یک درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل پایه رویشی و محیط کشت بر تعداد گیاهچه در سطح یک درصد و بر طول گیاهچه در سطح پنج درصد معنی‌دار بود.

مقایسه میانگین اثر متقابل پایه رویشی و محیط کشت بر صفات اندازه‌گیری شده (جدول ۳) نشان داد که پایه رویشی VPK1 بیشترین تعداد گیاهچه را در محیط WPM و بیشترین طول گیاهچه را در محیط کشت MS تغییر یافته تولید کرد، اما این پایه در محیط‌های کشت Knop و WPM علائم کلروز را نشان داد. دو پایه رویشی دیگر بیشترین تعداد و طول گیاهچه را در محیط کشت MS تولید کردند. پایه رویشی سنت جولین A نیز در محیط Knop علائم کلروز را نشان داد. محیط کشت Knop از نظر عناصر غذایی بسیار فقیر است و پایه‌های

BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA) منتقل شدند تا بهترین ترکیب هورمونی تعیین شود. هر چهار هفته یک بار، گیاهچه‌ها بازکشت شدند. تعداد گیاهچه پرآوری شده و نیز طول گیاهچه‌های پرآوری شده ثبت شد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل که در قسمت انتخاب محیط کشت دو فاکتور نوع پایه و محیط کشت هر کدام در سه سطح و در قسمت تنظیم‌کننده‌های رشد دو فاکتور نوع پایه و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد هر کدام در سه سطح در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به اجرا درآمد، به طوری که هر تکرار دارای چهار مشاهده بود. داده‌های مربوط به انتخاب محیط کشت با تبدیل ($\sqrt{Y+0.5 X}$) نرمال شد.

به منظور ریشه‌زایی نیز از محیط کشت MS تغییر یافته حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و یا ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده شد. گیاهچه‌ها پس از قرار گرفتن در محیط کشت ریشه‌زایی، 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. سپس تعداد و طول ریشه‌های تولید شده ثبت شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در اتاق سازگاری به محیط کشت پیت و پرلیت منتقل شدند. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور نوع پایه در سه سطح و تنظیم‌کننده‌های رشد در دو سطح در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به اجرا درآمد، به طوری که هر تکرار دارای چهار مشاهده بود. داده‌ها با

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

ویتامین‌ها	عناصر کم مصرف	عناصر پر مصرف
Vitamins	Micro elements	Marco elements
	mg ^l ⁻¹	ml ⁻¹
Pectine	0.2	H ₃ BO ₃ 6.2
Pyridoxine×HCl	0.5	CuSO ₄ ×5H ₂ O 0.25
Ascorbic acid	10	MnSO ₄ ×H ₂ O 16.9
Nicotinic acid	0.5	ZnSO ₄ ×7H ₂ O 8.6
Thiamine×HCl	1	Na ₂ MoO ₄ ×2H ₂ O 0.25
Glycin	2	KI 0.83
		COCl ₂ 0.025
		FeSO ₄ ×7H ₂ O 27.8
		Na ₂ EDTA 37.3

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر پایه رویشی و محیط کشت بر صفات اندازه گیری شده
Table 2. Analysis of variance for effects of clonal rootstock and culture medium on measured traits

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS	
			تعداد گیاهچه	طول گیاهچه
		df.	Plantlet numbers	Plantlet length
Rootstock	پایه رویشی	2	2.42**	2.15**
Culture medium	محیط کشت	2	3.04**	6.09**
Culture medium × Rootstock	پایه رویشی × محیط کشت	4	1.51**	0.37*
Error	خطا	18	0.13	0.12
Total	کل	26	-	-
C.V.%	ضریب تغییرات		28.19	27.51

** و *: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪.

** and *: Significant at 1% and 5% of probability level respectively.

WPM موثر بوده است. به نظر می‌رسد پایه‌های مورد مطالعه نیاز غذایی متفاوتی دارند، به طوری که پایه VPK1 به کمبود عناصر غذایی و نوع و مقدار آن‌ها حساس است. در بادام رقم نان پاریل، محیط کشت AP، محیط کشت مناسبی برای پرآوری بود، در صورتی که برای رقم نی‌پلوس اولترا، محیط کشت MS پرآوری مطلوبی را به دنبال داشت

VPK1 و سنت جولین A در این محیط کشت دچار کمبود عناصر غذایی شده و زرد شدند. نوع و مقدار بعضی از عناصر پر مصرف در محیط کشت WPM با محیط کشت MS تغییر یافته متفاوت است. عناصر کم مصرفی همچون ید و کبالت و نیز نوع ویتامین‌ها نیز بین دو محیط متفاوت است. این تفاوت‌ها در زرد شدن گیاهچه‌های حاصل از VPK1 در محیط کشت

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل پایه رویشی و محیط کشت بر برخی صفات گیاهچه
Table 3. Mean comparison for the effect of rootstock and medium culture on some characteristics of plantlet

پایه رویشی	محیط کشت	میانگین تعداد گیاهچه باززایی شده	میانگین طول گیاهچه‌ها
Rootstock	Culture medium	Mean of shoot number	Mean of shoot length (cm)
GF677	Knop	0.22e	0.25e
GF677	MS	2.22b	1.47c
GF677	WPM	0.44e	0.25e
St-Julien A	Knop	0.22e	0.11e
St-Julien A	MS	2.22b	3.88a
St-Julien A	WPM	1.00d	0.86d
VPK1	Knop	1.00d	0.83d
VPK1	MS	1.00d	4.16a
VPK1	WPM	5.00a	1.83b

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.

Means with similar letters in each column are not significantly different at 5% probability level (Duncan's Multiple Range Test).

QL (Quoirin and Lepoivre) در مقایسه با محیط MS و WP به طور معنی‌داری کاهش یافت. در کشت درون شیشه‌ای، ترکیب محیط کشت روی رشد گیاهچه موثر است و این تاثیر در اثر ترکیب نمک‌های موجود در محیط کشت ایجاد می‌شود (Ruzic *et al.*, 2003). به نظر می‌رسد پکتین و آسکوربیک اسید به کار رفته در محیط کشت MS تغییر یافته نیز در ارجحیت این محیط کشت بر سایر محیط‌ها اثرگذار بوده است. به گزارش پرز و همکاران (Perez *et al.*, 2000) در کشت درون شیشه‌ای چندین رقم زردآلو، بهترین نتایج در محیط کشت QL و عناصر ماکرووی WPM تغییر یافته حاصل شد. در پژوهش دیگری که روی ریزنمونه‌های GF677 انجام شد، مشخص شد که محیط کشت MS سبب طویل شدن برگ می‌شود و برگ‌ها علائم کمبود را نشان داده و نهایتاً از بین رفتند. پرآوری مطلوب از محیط

(Channuntapipat *et al.*, 2003). در این پژوهش نیز پایه رویشی VPK1 پرآوری مطلوب‌تری را نسبت به دو پایه دیگر نشان داد. آزمایش‌هایی روی محیط مناسب کشت در مراحل ازدیاد و ریشه‌دهی پایه‌های هلو انجام شد. نتایج نشان داد که این پایه‌ها در محیط درون شیشه‌ای اختلافات قابل ملاحظه‌ای دارند. ازدیاد بعضی از این پایه‌ها آسان و بعضی دیگر بسیار مشکل بود (Battistini and Paoli, 2002). محیط کشت می‌تواند در رشد درون شیشه‌ای گیاهان بسیار موثر باشد (Pilar and Marin, 2005). تحقیق انجام شده توسط آن‌دریو و مارین (Andreu and Marin, 2005) نشان دادند که ترکیب محیط کشت روی میزان پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دارها تاثیر دارد، به طوری که پس از انجام ۹ بازکشت، تعداد شاخساره روی محیط

معنی دار بود. اثر متقابل پایه رویشی و تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد گیاهچه در سطح یک درصد معنی دار بود ولی اثر معنی داری بر طول گیاهچه نداشت.

اثر پایه رویشی بر میانگین طول گیاهچه باززایی شده (شکل ۱) نشان داد که پایه‌های رویشی سنت جولین A و VPK1 به ترتیب با میانگین‌های ۲/۴۵ و ۲/۱۱ سانتی‌متر بیشترین و پایه رویشی GF677 با میانگین ۰/۹۸ سانتی‌متر کمترین طول گیاهچه را تولید کردند. نتایج گزارش شده توسط چانون تاپیات و همکاران (Channuntapipat *et al.*, 2003) عملکرد محیط کشت به ژنوتیپ نیز بستگی دارد. بیشترین طول گیاهچه‌ها در محیط کشت MS1 به دست آمد.

با توجه به این که BAP باعث افزایش تقسیم سلولی می‌شود می‌توان گفت نسبت بالای BAP به NAA در طویل شدن گیاهچه‌ها موثرتر از نسبت‌های کمتر این دو نوع تنظیم کننده رشد است. دو محیط دیگر که دارای نسبت‌های کمتر این دو نوع تنظیم کننده رشد بودند، اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند (شکل ۲). کمالی و همکاران (۲۰۰۶) 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

کشت Knop تغییر یافته به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد (Kamali *et al.*, 2006)، در حالی که تحقیق حاضر محیط کشت Knop به دلیل فقیر بودن از نظر نمک‌های موجود، کمترین پرآوری را نشان داد. اثر محیط‌های کشت پایه مختلف و غلظت سیتوکین روی افزونگری زردآلوی کانینو (Canino) بررسی شد. شاخساره‌های سالم تر و سبزتر روی محیط کشت WPM تغییر یافته ایجاد شدند (Perez *et al.*, 2000). به نظر می‌رسد با تغییر غلظت عناصر در محیط‌های کشت، نتایج بهتری حاصل می‌شود.

به طور کلی با توجه به این که، پایه VPK1 در محیط WPM علائم کلروز را نشان داد، می‌توان گفت برای کلیه پایه‌های رویشی، محیط کشت MS مطلوب‌ترین محیط کشت برای پرآوری است، لذا باز کشت‌ها در محیط کشت MS ادامه پیدا کرد. محیط کشت MS1 حاوی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود. محیط کشت MS2 حاوی ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و محیط کشت MS3 حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بود.

انتخاب ترکیب تنظیم کننده‌های رشد

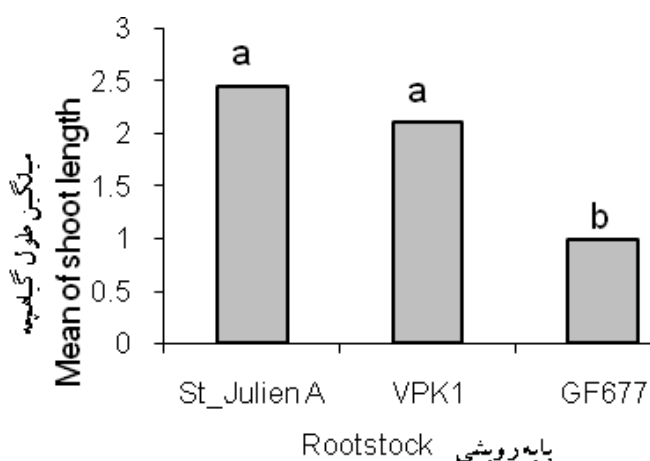
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۴) نشان داد که اثر پایه رویشی بر تعداد و طول گیاهچه در سطح یک درصد معنی دار بود. اثر تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد گیاهچه معنی دار نبود و بر طول گیاهچه در سطح یک درصد

جدول ۴- تجزیه واریانس اثر پایه رویشی و تنظیم‌کننده رشد بر صفات اندازه‌گیری شده
Table 4. Analysis of variance for effect of clonal rootstock and plant growth regulator on measured traits

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS	
			تعداد گیاهچه Plantlet number	طول گیاهچه Plantlet length
Rootstock	پایه رویشی	2	3.62**	1.92**
Culture medium	محیط کشت	2	0.51 ^{ns}	3.38**
Culture medium × Rootstock	پایه رویشی × محیط کشت	4	1.01**	0.37 ^{ns}
Error	خطا	18	0.19	0.17
Total	کل	26	-	-
C.V.%	ضریب تغییرات		29.94	29.24

**، * و ^{ns}: به ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ و عدم وجود اختلاف معنی‌دار.

**، * and ^{ns}: Significant at 1% and 5% probability levels and not significant respectively.



شکل ۱- اثر پایه رویشی بر میانگین طول گیاهچه
Fig. 1. Effect of rootstock on mean of shoot length

پایه رویشی VPK1 در محیط‌های MS2 و MS3، تولید کالوس کرد. همچنین افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در پایه GF677 تولید کالوس و شیشه‌ای شدن را تحریک کرد. پایه سنت‌جولین A برای پرآوری به غلظت‌های بیشتری از تنظیم‌کننده‌های رشد نیاز دارد. به نظر می‌رسد پایه‌های GF677 و VPK1 دارای

برای ازدیاد پایه‌های مورد مطالعه نبود. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد (جدول ۵) نشان داد که پایه رویشی سنت‌جولین A در محیط MS3 بیشترین پرآوری را به همراه داشت. پرآوری مطلوب در پایه‌های رویشی GF677 و VPK1 در محیط MS1 حاصل شد.

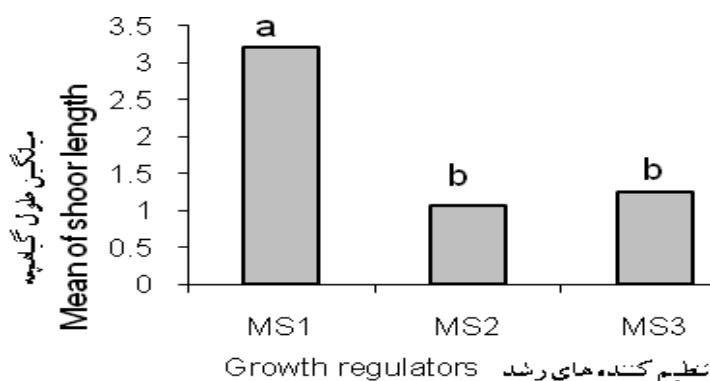
جدول ۵- مقایسه میانگین برخی از صفات گیاهچه تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم کننده های رشد
Table 5. Mean comparison for some of the plantlet characteristics affected by rootstock and growth regulators

پایه رویشی Rootstock	تنظیم کننده رشد Growth regulators	میانگین تعداد گیاهچه باززایی شده Mean of shoot number
GF677	MS1	2.22bc
GF677	MS2	0.77ef
GF677	MS3	0.55f
St-Julien A	MS1	2.22bc
St-Julien A	MS2	2.44b
St-Julien A	MS3	5.11a
VPK1	MS1	1.88c
VPK1	MS2	1.11de
VPK1	MS3	1.22d

میانگین هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه ای دانکن فاقد تفاوت معنی دار هستند.

Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level.

MS1: 0.6 mg^l⁻¹ BAP and 0.01 mg^l⁻¹ NAA ترکیب اول (MS1): ۰/۶ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA
MS2: 0.8 mg^l⁻¹ BAP and 0.1 mg^l⁻¹ NAA ترکیب دوم (MS2): ۰/۸ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA
MS3: 1.0 mg^l⁻¹ BAP and 0.5 mg^l⁻¹ NAA ترکیب سوم (MS3): ۱ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی گرم در لیتر NAA



شکل ۲- اثر تنظیم کننده های رشد بر میانگین طول گیاهچه
Fig. 2. Effect of growth regulators on mean of shoot length

که ریزنمونه ها از آن گرفته شده اند نیز بستگی دارد. در پایه GF677 غلظت های بیشتر اکسین منجر به تولید کالوس شده و غلظت های بالاتر سیتوکینین شیشه ای شدن را به دنبال داشت. نتایج مربوط به انتخاب بهترین محیط کشت

مقادیری از تنظیم کننده های رشد به صورت درونزا باشند، به طوری که کاربرد غلظت کمی از تنظیم کننده های رشد برونزا برای پرآوری آنها کافی است. میزان تنظیم کننده های رشد درونزا علاوه بر ژنوتیپ، به شرایط گیاه مادری

نبود اما بر طول ریشه و تعداد گیاهچه به ترتیب در سطوح یک و پنج درصد معنی‌دار بود. اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد و طول ریشه به ترتیب در سطوح یک و پنج درصد معنی‌دار بود، اما اثر معنی‌داری بر تعداد گیاهچه معنی‌دار نداشت. اثر متقابل پایه رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد فقط بر طول ریشه در سطح یک درصد معنی‌دار بود و اثر معنی‌داری بر سایر صفات نداشت. پایه‌های مورد مطالعه در محیط کشت ریشه‌زایی، پرآوری نیز داشتند، به طوری که پایه‌های VPK1، سنت‌جولین A و GF677 به ترتیب با میانگین‌های ۰/۶۶، ۰/۳۵ و ۰/۱۶ بیشترین پرآوری را نشان دادند (شکل ۳). پایه VPK1 در محیط‌های کشت مختلف پرآوری خوبی دارد و به نظر می‌رسد وجود تنظیم‌کننده‌های رشد درون‌زا در پرآوری مطلوب این پایه دخیل باشد. اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میانگین تعداد ریشه (شکل ۴) نشان داد که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۴/۰۳ بیشترین تعداد ریشه و محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA با میانگین ۱/۸۴ کمترین تعداد ریشه را تولید کردند. اکسین‌ها باعث رشد طولی سلول، تشکیل کالوس و تشکیل ریشه‌های نابجا می‌شوند. در این تحقیق NAA بیش از IBA در تحریک ریشه‌زایی موثر بود.

مقایسه میانگین صفات ریشه تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد (جدول ۷) نشان داد که پایه‌های سنت‌جولین A و VPK1 در

پایه نشان داد که پایه VPK1 بیشترین تعداد گیاهچه را تولید کرد، اما نتایج بعدی نشان داد که با تغییر در نسبت تنظیم‌کننده‌های رشد پایه سنت‌جولین A پرآوری مطلوب‌تری را به دنبال دارد و به این ترتیب اهمیت ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد مشخص می‌شود. در پژوهشی محیط مناسب برای پرآوری پایه GF677، محیط MS حاوی ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود (Kamali *et al.*, 2006) که به غلظت مطلوب BAP و NAA در تحقیق حاضر نزدیک است. بیشترین پرآوری شاخساره آلوی بیستریکا روی محیط کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد. افزودن ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA3 افزایشی در پرآوری و طول شاخساره ایجاد نکرد (Ambrozic *et al.*, 1992). در کشت درون شیشه‌ای GF677 استفاده بیش از ۱ میلی‌گرم در لیتر BA باعث افزایش پرآوری شد، ولی شیشه‌ای شدن را به دنبال داشت (Kamali *et al.*, 2006). در تحقیق حاضر نیز افزودن ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به محیط کشت، تولید کالوس و نیز شیشه‌ای شدن را به همراه داشت.

ریشه‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای

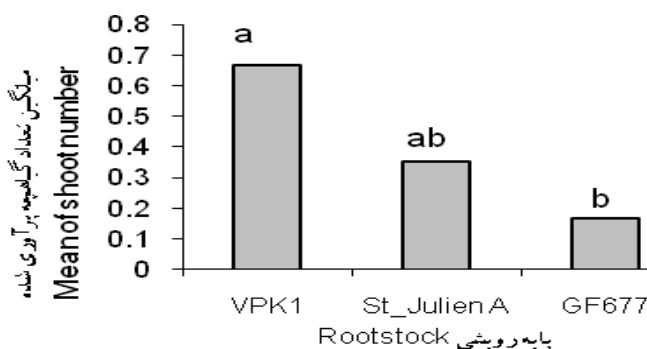
نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۶) نشان داد که اثر پایه رویشی بر تعداد ریشه معنی‌دار

جدول ۶- تجزیه واریانس اثر پایه رویشی و تنظیم کننده رشد بر صفات اندازه گیری شده
Table 6. Analysis of variance for effect of clonal rootstock and plant growth regulator on measured traits

S.O.V.	منبع تغییرات	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS		
			تعداد ریشه Root number	طول ریشه Root length	تعداد گیاهچه Plantlet number
Rootstock	پایه رویشی	2	0.54 ^{ns}	4.23 ^{**}	0.32 [*]
Plant growth regulator (PGR)	تنظیم کننده رشد	1	4.64 ^{**}	1.06 [*]	0.06 ^{ns}
PGR × Rootstock	پایه رویشی × تنظیم کننده رشد	2	0.16 ^{ns}	1.13 ^{**}	0.027 ^{ns}
Error	خطا	12	0.29	0.15	0.072
Total	کل	17	-	-	-
C.V.%	ضریب تغییرات		31.02	23.34	29.82

**، * و ns: به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ و ۵٪ و عدم وجود اختلاف معنی دار.

**، * and ns: Significant at 1% and 5% probability levels and not significant respectively



شکل ۳- اثر پایه رویشی بر میانگین تعداد گیاهچه

Fig. 3. Effect of rootstock on mean of shoot number

(Kamali *et al.*, 2006). در پژوهشی پرآوری شاخساره سنت جولین A، در محیط کشت MS تغییر یافته القا شد. IAA به غلظت ۴ میلی گرم در لیتر تاثیری در القای ریشه‌زایی نداشت. بهترین شرایط برای القای ریشه‌دهی محیط حاوی ۴ میلی گرم در لیتر IBA و تیمار تاریکی بود (Reeves *et al.*, 1985).

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت برای ریزازدیادی پایه‌های رویشی VPK1، سنت جولین A و GF677 محیط MS تغییر یافته

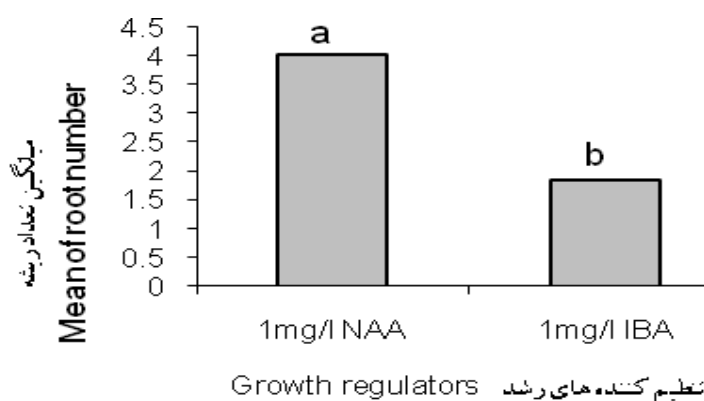
محیط MS دارای ۱ میلی گرم در لیتر NAA و پایه GF677 در محیط MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر IBA ریشه‌هایی با طول بیشتر تولید کردند. این نتایج اثر ژنوتیپ را در پاسخ به تنظیم کننده‌های رشد نشان می‌دهد. اثر متقابل پایه رویشی و تنظیم کننده‌های رشد بر میانگین تعداد ریشه و گیاهچه معنی دار نبود.

پژوهش‌ها نشانگر این است که ریشه‌دهی پایه GF677 در شرایط درون شیشه‌ای به نوع محیط کشت بستگی دارد

جدول ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل پایه رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد بر برخی صفات ریشه
Table 7. Mean comparison for the effect of rootstock and growth regulators on some characteristics of root

پایه رویشی Rootstock	تنظیم‌کننده رشد Growth regulators	میانگین طول ریشه Mean of root length (cm)
GF677	1 mg ^l ⁻¹ NAA	1.5de
GF677	1 mg ^l ⁻¹ IBA	2.08c
St-Julien A	1 mg ^l ⁻¹ NAA	6.77a
St-Julien A	1 mg ^l ⁻¹ IBA	2.84b
VPK1	1 mg ^l ⁻¹ NAA	1.77cd
VPK1	1 mg ^l ⁻¹ IBA	1.38e

میانگین‌هایی که دارای حروف مشابه هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن فاقد تفاوت معنی‌دار هستند.
Means with similar letters are not significantly different at 5% probability level.



شکل ۴- اثر محیط کشت بر میانگین تعداد ریشه
Fig. 4. Effect of growth regulators on mean of root number

مورد بررسی قرار داد و نیز می‌توان از صفت مقاومت به سرمای آن در کارهای به‌نژادی استفاده کرد. پایه سنت‌جولین A نیز که افزونگری مطلوبی را نشان داد می‌تواند برای احداث باغ‌های یکنواخت هلو، شلیل، آلو و گوجه به کار رود.

نسبت به محیط‌های پایه WPM و Knop مناسب‌تر است و غیر از پایه سنت‌جولین A که در محیط MS3 پرآوری مطلوبی داشت، در سایر پایه‌ها غلظت‌های کمتر تنظیم‌کننده‌های رشد برای پرآوری و ریشه‌زایی آن‌ها مطلوب‌تر است. بررسی سازگاری پایه رویشی VPK1 را می‌توان در مناطق سرد به عنوان پایه هسته‌دارها

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.
- Antonopoulou, C., Dimassi, K., Therios, I., Chatzissavvidis, C., and Papadakis, I. 2007.** The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF677 explants. *Acta Physiologiae Plantarum* 29: 559-561.
- Battistini, A., and Paoli, 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., Sedgley, M., and Collins, G. 2003.** Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and NePlus Ultra and the hybrid rootstocks Titan×Nemaguard. *Scientia Horticulturae* 98: 473-484.
- 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 (1): 3-8.
- Kamali, K., Majidi, E., and Zarghami, R. 2006.** Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). *Plant Genetics and Breeding* 56: 175-177.
- 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 (1): 141-144.
- Nowak, B., Miczynski, K., and Hudy, L. 2004.** Sugar uptake and utilization during adventitious bud differentiation on *in vitro* leaf explants of ‘Wegierka Zwycla’ 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 apricot cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63: 133-141.
- Perez, T. O., Lopez, J. M., Egea, L., and Burgos, L. 2000.** Effect of basal media

- and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica* L.) cv. Canino. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology 75: 283-286.
- 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.
- Reeves, D. W., Couvillon, G.A., and Horton, B. D. 1985.** Effect of gibberellic acid (GA3) 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 (2): 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.