Archive of SID.ir

Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 52, No 3, Autumn 2021 (767-777)
DOI: 10.22059/ijhs.2019.277690.1616

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۲، شمارهٔ ۳، پاییز ۱۴۰۰ (ص ۷۷۷-۷۶۷)

نشریه پژوهشی:

مطالعه عوامل موثر در ریزازدیادی پایه نیمه پاکوتاه گیلاس MA× MA60

ابراهیم گنجی مقدم[1*]، طیبه آموزگار[2]، احمد اصغرزاده[3] و محبوبه زمانی‌پور[4]
۱. 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
۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد شیروان، دانشگاه آزاد اسلامی، شیروان، ایران
٤. استادیار، دانشکده فنی و مهندسی، دانشگاه ولایت ایرانشهر، ایرانشهر، ایران
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۲۱ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۳/۱)

چکیده

MA×MA60، پایه نیمه‌پاکوتاه گیلاس بوده که از طریق ریزازدیادی به راحتی تکثیر گردیده و به دلیل مقاومت به فیتوفیترا که از مهم‌ترین عوامل زوال درختان میوه هسته‌دار محسوب می شود، پایه با ارزشی است. این مطالعه با هدف بررسی اثر نوع محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر پرآوری و ریشه‌زایی پایه MA×MA60 در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی انجام گرفت. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً صادفی با ٤ تکرار اجرا شد. در مرحله پرآوری، تیمارها شامل سه محیط کشت (MS، WPM و DKW) و دو تنظیم‌کننده رشد (بنزیل آمینو پورین و تیدیازوران) در غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی گرم بر لیتر و در مرحله ریشه‌زایی، تیمارها شامل سه محیط کشت (MS، WPM و DKW) و غلظت‌های مختلف ایندول بوتریک اسید (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم بر لیتر) بودند. نتایج نشان داد در مرحله پرآوری، بیشترین تعداد شاخه (٦/۳۳)، برگ (۲۰/۳۳) و کیفیت نمونه (۳/۰۰) در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و طول شاخه (۲/۳ سانتی متر) در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم بر لیتر تیدیازوران بود. بیش ترین درصد ریشه‌زایی (۷۵ درصد) و تعداد ریشه (۵/۳۳) به ترتیب در محیط کشت MS حاوی ۳ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید و محیط کشت DKW حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید بدست آمد. گیاهچه‌ها در شرایط گلخانه با موفقیت سازگار شدند. درصد بقا در محیط کشت حاوی کوکوپیت و پرلیت حدودا ۷۵ درصد بود.

واژه‌های کلیدی: پرآوری، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، ریشه‌زایی، گیلاس.

Study of factors affecting on the micropropagation of the MA×MA60 sweet cherry semi-dwarf rootstock

Ebrahim Ganji Moghadam[1*], Tayebe Amuzegar[2], Ahmad Asgharzadeh[3] and Mahboubeh Zamanipour[4]
1. Associate Professor, Crop and Horticultural Science Research Department, Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, Iran
2, 3. M. Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticultural Science, Shirvan Branch, Islamic Azad University, Shirvan, Iran
4. Assistant Professor, Technical and Engineering Faculty, Velayat University, Iranshahr, Iran
(Received: Mar. 12, 2019 - Accepted: May 22, 2019)

ABSTRACT

MA×MA60 is a sweet cherry semi dwarf rootstock that is easily reproduced through micropropagation and because of the resistance to phytophytora, which is one of the most important factors in the deterioration of stone fruit trees, it is a valuable rootstock. The aim of this study was to investigate the effect of culture media and plant growth regulators on the proliferation and rooting of MA×MA60 rootstock at the Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. This experiment was conducted as a factorial in a completely randomized design with 4 replications. At the proliferation stage, the treatments consisted of three culture media (MS, WPM and DKW) and two growth regulators (benzyl amino purine and thiadiazuron) at concentrations of 0, 1 and 2 mgL^{-1} and at the rooting stage, treatments consisted of three culture media (MS, WPM and DKW) and different concentrations of indole-butyric acid (0, 1, 2 and 3 mgL^{-1}). The results showed that in the proliferation stage, the highest number of shoots (33.6), leaves (20.33) and plantlet quality (3) were recorded in MS medium enriched with 2 mgL^{-1} of benzyl amino purine, and the shoot length (3.2 cm) in the MS medium enriched with 1 mgL^{-1} thiadiazuron. The highest rooting percentage (75%) and root number (5.33) were obtained in MS medium enriched with 3 mgL^{-1} indole buteric acid and DKW enriched with 2 mgL^{-1} indole buteric acid, respectively. Plantlets successfully adapted to the greenhouse conditions. Survival rate was about 75% in cocopeat and perlite culture.

Keywords: Plant growth regulators, proliferation, rooting, sweet cherry.

* Corresponding author E-mail: eganji@hotmail.com

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

مقدمه

اغلب پایه‌های مورد استفاده برای درختان میوهٔ هسته‌دار در ایران بذری است و درختان روی این پایه‌ها از نظر رشد رویشی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها (به دلیل تأثیر متقابل پایه و پیوندک) یکسان نیستند و این امر باعث مشکلاتی همچون عمر کوتاه درختان هلو، خشکیدن درختان گیلاس و عدم یکنواختی رشد درختان می‌شود. در پایه‌های رویشی درختان میوهٔ هسته‌دار که نتیجهٔ ازدیاد پایه‌ها به روش‌های غیرجنسی است، متخصوصیات گیاه مادری به طور کامل منتقل می‌شود. علاوه بر این باغ‌های احداث شده با پایه‌های رویشی در مقایسه با پایه‌های بذری، مزایایی هم‌چون یکنواختی اندازهٔ درخت، کنترل رشد، مدیریت کارا در برنامه‌های داشت و برداشت در باغ، مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، کیفیت بهتر، کشت متراکم و افزایش عملکرد در واحد سطح دارند. این دامنهٔ وسیع کارایی پایه‌های رویشی سرانجام به کاهش هزینه‌های تولید و ایجاد درآمد بالاتر برای باغدار منجر می‌شود (Mahdavian *et al.*, 2011; Massai & Loreti, 2004). پایه رویشی MA×MA60 هیبرید بین‌گونه ای از *P. mazzard* و *P. mahaleb* می باشد و احتمالا یکی از پایه‌هایی است که به طور گسترده‌ای برای گیلاس و آلبالو به دلیل سازگاری با رقم‌های مختلف و مقاومت به فیتوفیترا مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ganji Moghaddam & Abdollahzadeh Gonabadi, 2008). بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه ناشی از گونه‌های مختلف فیتوفترا از مهم‌ترین عوامل زوال درختان میوه هسته‌دار محسوب می‌شود. استفاده از پایه های مقاوم از شناخته شده ترین روش‌های مقابله با بیماری پوسیدگی ریشه و طوقه است (Moghri *et al.*, 2014). به‌علاوه، این پایه متحمل به خاک‌های نامطلوب می باشد و مقاومت بالایی به آفات و بیماری‌ها دارد (Ganji Moghaddam & Abdollahzadeh Gonabadi, 2008). پایه MA×MA60 نسبت به ویروس پاکوتاهی گیلاس و ویروس نکروزه شدن لکه حلقوی برگ متحمل می باشد و مقاومت به خشکی آن بیشتر از پایه‌های جیزلا و F12/1 است. قدرت رشد درختان روی این پایه حدود ۲۰ درصد کمتر از کلت (Colt) می‌باشد (Ganji Moghadam & Bouzari, 2018). محصول‌دهی درختان روی این پایه از سال چهارم تا پنجم پس از کاشت شروع شده و حداکثر تولید در سال ششم و هفتم حاصل می‌شود. استقرار درختان در این حالت خوب بوده و پاجوش‌دهی در این پایه مشاهده نمی‌شود (Ganji Moghadam & Bouzari, 2018). اگرچه، پایه MA×MA60 از طریق قلمه چوب نرم تکثیر می‌یابد، اما مشکلاتی نیز همچون سرعت پایین ازدیاد، صرف زمان زیاد و هزینه نیروی کارگری بالا دارد (Ruzic & Vojovic, 2008). برای تأمین تعداد پایه مورد نیاز در بازار لازم است پایه‌های هیبرید جدید با استفاده از تکنولوژی‌های کارآمد و نو در حد انبوه تکثیر شوند که بدین منظور استفاده از کشت بافت کاربرد گسترده‌ای دارد (Pionchet *et al.*, 2002). پروتکل تکثیر موفق بستگی به نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی دارد. محیط کشت MS به‌طور گسترده‌ای برای تکثیر پایه MA×MA14 و محیط کشت DKW برای تکثیر پایه گیزلا-۵ استفاده شده است (Fallahpour *et al.*, 2015; Bosnjak *et al.*, 2012) Zilka *et al.* (1991). استفاده از ۰/۲، ۶ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین را برای تکثیر پایه‌های MA×MA2، MA×MA46 و MA×MA60، به ترتیب موفقیت آمیز دانست. Hosseinpour *et al.* (2015) در بررسی تکثیر درون شیشه‌ای MA×MA60 بیان نمودند که بیشترین تعداد شاخه (۱۰/۳) در محیط کشت DKW حاوی ۰/۷ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین و بیشترین درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه، در محیط کشت 1/2 MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید بدست آمد. Erbenova *et al.* (2001) در بررسی کشت درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های سرشاخه‌ی پایه‌های پاکوتاه گیلاس بیان نمودند محیط کشت موراشیگ و اسکوگ حاوی ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

بالاترین میزان پرآوری را ایجاد نمود. Sulusoglu (2002) در بررسی ریز ازدیادی پایه‌های محلب (K-KK1، S-AB1، SL-64 و F12/1) در شرایط درون شیشه‌ای گزارش کردند که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینوپورین و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید، بهترین محیط شاخه‌زایی بود. هم‌چنین، مطلوب‌ترین محیط ریشه‌زایی، محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید بود. از طرفی، محیط کشت WPM سبب شیشه‌ای شدن بافت و مرگ ریز نمونه‌ها گردید. Carolina *et al.* (2006) در بررسی ریز ازدیادی *Prunus serotina* با استفاده از جوانه به عنوان ریز نمونه در محیط کشت MS حاوی ۴/۴۴ میکرو مول بنزیل آدنین، ۰/۴۹ میکرو مول اسید ایندول بوتریک و ۰/۲۹ میکرو مول اسید جیبرلیک، بهترین نتیجه را بدست آوردند. آن‌ها هم‌چنین بیان نمودند زمانی‌که از برگ به عنوان ریزنمونه استفاده کردند، بیشترین میزان پرآوری به میزان ۳۸ درصد با استفاده از محیط کشت WPM حاوی ۶/۸۱ میکرو مول تیدیازوران ایجاد شد. بالاترین درصد ریشه‌زایی در هر دو ریز نمونه برگ و جوانه به ترتیب برابر ۲۷ و ۷۰ درصد با کاربرد ۲/۵ میکرو مول ایندول بوتریک اسید بود. در مجموع ۸۶ درصد گیاهان ریشه‌دار شده زنده ماندند. Ganji moghadam *et al.* (2008) در بررسی تکثیر درون شیشه ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب بیان نمودند بهترین شاخه‌زایی در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم اسید جیبرلیک و ۱ میلی‌گرم بنزیل آدنین بدست آمد. هم‌چنین، محیط کشت موراشیک و اسکوک حاوی ۰/۸ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید، بیشترین میزان ریشه‌زایی را ایجاد نمود. Daneshvar Hossini *et al.* (2010) در بررسی تاثیر محیط کشت و غلظت تنظیم کننده‌های رشد در کشت درون شیشه‌ای روی پایه گیزلا -۶ بیان نمودند که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین بهترین شرایط را برای شاخه‌زایی ایجاد نمودند. میانگین و طول شاخه‌ها به ترتیب برابر ۵/۱۱ و ۱/۷۰ سانتی‌متر بودند. Mahdavian *et al.* (2011) در بررسی اثر محیط کشت‌های مختلف و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در پرآوری و ریشه‌دهی پایه SL-64 گزارش کردند که محیط کشت DKW حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین با نرخ تکثیری حدود ۶/۰۶ شاخسارهٔ جدید به ازاء هر ریزنمونهٔ اولیه بهترین محیط برای پرآوری این پایه بود. Fallahpour *et al.*, (2015) در بررسی اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازدیادی پایه نیمه‌پاکوتاه گیلاس CAB-6p دریافتند که محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین، با نرخ تکثیر ۸/۱ شاخساره به ازای ریزنمونه، مناسب‌ترین تیمار پرآوری بود. بالاترین درصد ریشه‌زایی به میزان ۶۹ درصد در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA به دست آمد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به بستر کاشت پیت ماس: کوکوپیت: پرلایت (۱:۲:۲ حجمی) منتقل و ۸۸ درصد گیاهچه‌ها سازگار شدند.

Tsafouros & Roussos (2019) در بررسی مطالعه سیتوکینین (۶- بنزیل آدنین، ۲- ایزوپنتیل آدنین، کینتین، متاتوپولین، تیدیازوران و فورکلرفنورون) بر میزان پرآوری پایه نیمه پاکوتاه کریمسیک-۵ (Krymsk-5) بیان داشتند که بیشترین تعداد شاخه (۳/۵) با کاربرد ۶- بنزیل آدنین در غلظت ۹/۶ میکرومول بدست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۹۵ درصد) با کاربرد ۲۰ میکرومول ایندول بوتریک اسید به همراه ۵ میکرومول نفتالین استیک اسید ایجاد شد، در حالی که بیشترین تعداد ریشه (۸/۵) با کاربرد ۲۰ میکرومول ایندول بوتریک اسید به همراه ۲/۵ میکرومول نفتالین استیک اسید بدست آمد.

Bouzari *et al.* (2020) در بررسی اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازدیادی دو پایه پرونوس (CAB-6p و JASPI) گزارش کردند که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین به همراه ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید برای مرحله پرآوری هر دو پایه و محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید به همراه ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید به‌ترتیب برای ریشه‌زایی دو پایه CAP-6P و JASPI توصیه می‌گردند.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

این مطالعه با هدف بررسی اثرات محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر پرآوری و ریشه‌زایی پایه گیلاس نیمه پاکوتاه MA×MA60 انجام شده است.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از ریزنمونه تک جوانه پایه نیمه پاکوتاه MA×MA60 گیلاس به عنوان ماده گیاهی که در مرحله استقرار درون شیشه‌ای در آزمایشگاه کشت بافت مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی قرار داشت، استفاده شد. در این آزمایش از سه نوع محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1962)، WPM (Lioyd & Mccrown, 1980) و DKW (Driver & Kuniyuki, 1984) استفاده شد. در تمامی محیط‌های کشت، ساکاروز به میزان ۳۰ گرم بر لیتر و آگار به میزان ۶/۷ گرم استفاده شد و pH برابر ۵/۷ تنظیم گردید.

مرحله پرآوری

این آزمایش بر اساس فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ ریزنمونه انجام گرفت. فاکتور اول شامل سه نوع محیط کشت مختلف (MS، WPM و DKW) و فاکتور دوم شامل دو نوع تنظیم کننده رشد (بنزیل آمینو پورین-BAP و تیدیازوران-TDZ) بودند که هر کدام در سه غلظت صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر مورد آزمایش قرار گرفتند. ایندول بوتریک اسید (IBA) به میزان ۰/۰۱ میلی گرم بر لیتر در تمامی محیط کشت‌ها استفاده گردید. ریز نمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و میزان نور ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند. در این مرحله ۳ مرتبه واکشت با فاصله زمانی ۲۱ روز انجام شد. تعداد و طول شاخه، تعداد برگ و کیفیت ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری و یادداشت شدند. کیفیت ریز نمونه‌ها در ۳ دسته شامل A (ریزنمونه‌های قوی و پررشد، فاقد نشانه های شیشه‌ای شدن، نکروز شدن مریستم انتهایی و زرد شدن برگ)، B (کمتر از ۱۵ درد ریز نمونه‌ها دارای نشانه های شیشه‌ای شدن، نکروز شدن مریستم انتهایی و زرد شدن برگ) و C (ریزنمونه‌های ضعیف، ۱۵ تا ۳۰ درصد نمونه‌ها دارای نشانه‌های شیشه‌ای شدن، نکروز شدن مریستم انتهایی و زرد شدن برگ) دسته‌بندی شدند.

مرحله ریشه‌زایی

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۴ تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ ریزنمونه انجام گرفت. فاکتور اول شامل سه محیط کشت جامد مختلف (MS، WPM و DKW) و فاکتور دوم شامل چهار سطح ایندول بوتریک اسید (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر) بودند. ریز نمونه‌های کشت شده به اتاقک رشد با دمای ۲۲ درجه سانتی‌گراد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و میزان نور ۲۰۰۰ تا ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند. تعداد و طول ریشه و کیفیت ریزنمونه‌ها اندازه‌گیری و یادداشت شدند.

تجزیه آماری

داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری MSTAT-C استفاده گردید.

انتقال و سازگاری

به منظور سازگاری گیاهچه‌ها، آن ها را با احتیاط کامل به طوری که ریشه آن ها آسیب نبیند، از ظروف آزمایشگاهی خارج کرده و سپس برای حذف بقایای محیط کشت که درلابه لای ریشه ها ممکن است باقی مانده باشد، با آب مقطر، به طور کامل شستشو داده شدند. برای آن که استقرار گیاهچه‌ها با سهولت بیشتری فراهم شود، برگ‌های پایینی حذف گردیدند. گیاهچه‌های آماده شده درون گلدان‌های حاوی بستر ضدعفونی شده منتقل شدند. بستر کشت در این مرحله مخلوطی از کوکوپیت و پرلیت به نسبت ۱ به ۱ بودند. پس از انتقال نمونه‌ها به محیط بیرون، گلدان‌های حاوی گیاهچه توسط ظروف شفاف پلاستیکی محصور شدند. پس از تثبیت گیاهچه‌ها در

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

گلدان، گیاهچه‌ها باید نسبت به شرایط کمبود رطوبت سازگار می‌شدند و بنابراین، در هفته اول روی پوشش‌های پلاستیکی یک سوراخ کوچک جهت تبادل هوا ایجاد کرده و با گذشت زمان به تعداد این سوراخ‌ها اضافه گردید. آبیاری گیاهچه‌ها در ابتدا با آب مقطر انجام شد تا گیاه با شرایط جدید سازگار شود. سپس به منظور کمک به سازگاری با محلول محیط کشت 1/2 MS آبیاری شدند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس حاصل از آنالیز داده‌ها در مرحله پرآوری نشان داد اثر متقابل بین نوع محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر تعداد شاخه

در بررسی نتایج اثر متقابل محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد شاخه مشاهده شد که بین فاکتورها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. بیش‌ترین تعداد شاخه (۶/۳) در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و کم‌ترین تعداد (۱) در شاهد به دست آمد (جدول ۲). نسبت نیترات به آمونیوم در محیط‌های کشت با اهمیت است که به عنوان منبع اصلی تامین نیتروژن به محیط کشت اضافه می‌گردد و این نسبت به ژنوتیپ یا گونه، سن فیزیولوژیکی و درجه تمایزیابی بافت بستگی دارد George *et al.*, (2008). غلظت‌های مواد غذایی نیتروژن، پتاسیم، منیزیم و ریزمغذی‌ها در محیط کشت WPM و DKW کمتر از محیط کشت MS است و این عناصر نقش مهمی در پرآوری دارند. George *et al.* (2008) و Pruski *et al.* (2000) بیان داشتند که سیتوکینین‌ها زمانی که به محیط کشت اضافه می‌شوند، سبب افزایش تقسیم سلولی می‌گردند و بنزیل آمینو پورین بطور موفقیت آمیزی در القای پرآوری شاخه‌های گونه پرونوس موثر بوده است. Mahdavian *et al.* (2011) و Hosseinpour *et al.* (2015) تاثیر بنزیل آمینو پورین را در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید بیان نمودند، به گونه ای که افزایش غلظت این هورمون در محیط کشت باعث تولید شاخساره‌های بیشتری شدند. Nordstrom *et al.* (2004) گزارش نمودند که اکسین‌ها ممکن است هم‌چنین نقش تنظیم کننده مستقیمی در تعادل سیتوکینین‌ها و افزایش سرعت سنتز آن ها داشته باشند. این نتایج ممکن است در ارتباط با غلظت سیتوکینین داخلی باشد که سبب افزایش غلظت اکسین‌های داخلی گردد. هم‌چنین، گزارش شده است که نسبت اکسین به سیتوکینین سیگنال مهمی در تشکیل سلول و فرآیند تقسیم سلول می‌باشد. Perez-Tornero *et al.* (2000) بیان نمودند که با افزایش غلظت بنزیل آمینو پورین تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر، تعداد شاخه‌ها در زردآلوی کانینو (Canino) افزایش یافت. Erbenova (2001) و Sulusloglu (2012) افزایش ۵۰ درصدی در پرآوری را در پایه‌های پاکوتاه گیلاس در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین گزارش نمودند که با نتایج ما مطابقت دارد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد و طول شاخه، تعداد برگ و کیفیت گیاهچه MA×MA60 در مرحله پرآوری.

Table 1. Results of variance analysis effect of medium culture and plant growth regulators on the shoot number and length, leaf number and plantlet quality of MA×MA60 in the proliferation stage.

Source of variation	df	Mean of squares			
		Shoot number	Shoot length	Leaf number	Plantlet quality
Medium culture (a)	2	10.172**	1.567**	1.172**	1.739**
Plant growth regulators (b)	2	44.24**	7.049**	550.22**	7.780**
a×b	4	2.381**	0.248**	7.722*	0.444**
Error	36	0.04	0.49	2.685	0.007
C.V. (%)		7.26	17.02	14.46	4.9

** و * به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

**, *: Significantly difference at 1% and 5% of probability levels, respectively .

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

جدول ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (بنزیل آمینو پورین و تیدیازوران) بر تعداد شاخه MA×MA60.

Table 2. Mean comparison interaction effect of medium culture and plant growth regulators (BAP and TDZ) on the shoot number of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Shoot number		
		MS	WPM	DKW
BAP	0	1.50^{ij}	1.00^{j}	1.00^{j}
	1	4.70^{bc}	3.10^{gh}	2.50^{i}
	2	6.33^{a}	4.43^{cd}	3.61^{ef}
TDZ	0	1.00^{j}	1.00^{j}	1.00^{j}
	1	4.01^{de}	2.50 ^{i}	3.20^{fg}
	2	5.04^{b}	2.70 ^{hi}	3.10^{g}

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability level.

اثرات محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر طول شاخه

نتایج حاصل از اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر طول شاخه‌ی تشکیل شده در مرحله پرآوری نشان داد بین فاکتورها تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. بیش‌ترین طول شاخه (۲/۳ سانتی متر) در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر تیدیازوران و کمترین طول شاخه (۰/۵۶ سانتی متر) در محیط کشت DKW بدون تنظیم کننده رشد بدست آمد. با افزایش غلظت بنزیل آمینو پورین، تعداد شاخساره‌های تولید شده از هر ریزنمونه افزایش یافت، اما طول شاخساره‌ها به شدت کاهش یافت (جدول ۳). Shabani *et al.* (2015) بیان نمودند که محیط کشت MS، کلسیم بیشتری نسبت به محیط‌های کشت WPM و DKW دارد و بنابراین، نقش مهمی در استحکام و طویل شدن گیاهچه دارند و با نتایج ما مطابقت دارد.

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (بنزیل آمینو پورین و تیدیازوران) بر طول شاخه MA×MA60.

Table 3. Mean comparison interaction effect of medium culture and plant growth regulators (BAP and TDZ) on the length number of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Shoot length (cm)		
		MS	WPM	DKW
BAP	0	0.93^{lg}	0.57^{gh}	0.56^{gh}
	1	1.72^{bcd}	1.17^{ef}	1.35^{def}
	2	1.72^{bcd}	1.13^{ef}	1.55^{cde}
TDZ	0	0.93^{lg}	0.57^{gh}	0.56^{gh}
	1	2.30^{a}	1.27^{def}	2.25^{ab}
	2	2.14^{ab}	1.23^{def}	2.10^{abc}

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability level.

اثرات محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر تعداد برگ

بررسی نتایج حاصل از اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد برگ تشکیل شده در مرحله پرآوری نشان داد که بین فاکتورها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. بیش‌ترین تعداد برگ (۲۰/۳۳) در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و کمترین تعداد برگ (۴/۳۳) در محیط کشت DKW بدون تنظیم کننده رشد مشاهده شد (جدول ۴). نمونه های مستقر شده روی محیط کشت DKW دارای رشد بسیار کندی نسبت به دو محیط کشت دیگر بودند. رنگ برگ‌ها در محیط کشت WPM به صورت سبز تیره و در محیط کشت MS به صورت سبز روشن بود و تاخیر در واکشت محیط کشت MS سبب رنگ پریدگی گردید. این نتایج با یافته‌های Bolandi *et al.* (2017) مطابقت دارد. بین محیط‌های کشت DKW، MS و WPM، تفاوت‌هایی از نظر نوع و مقدار برخی عناصر و ترکیبات کم مصرف و پرمصرف وجود داشت و اختلاف در پاسخ به محیط‌ها ناشی از همین تفاوت‌ها بود. در دو محیط کشت WPM و DKW در مقایسه با محیط کشت MS، نیترات پتاسیم حذف و سولفات پتاسیم جایگزین شده، ضمن اینکه مقدار یون سولفات در محیط‌های کشت WPM و DKW به ترتیب ۴/۴ و ۷/۲ برابر بیشتر از مقدار آن در محیط کشت MS بود. از تفاوت‌های دیگر سه محیط کشت مورد مطالعه، مقادیر نیترات و آمونیوم آنها بودکه به عنوان منبع اصلی تامین نیتروژن به محیط کشت اضافه شد. اگرچه نسبت نیترات به آمونیوم در سه محیط تقریبا برابر بود، اما مقادیر آن‌ها در محیط‌ها با یکدیگر متفاوت بود، به گونه‌ای که مقدار نیترات در محیط کشت MS نسبت به دو محیط دیگر به ترتیب ۳/۸۳ و ۱/۱۴ برابر و مقدار آمونیوم آن نسبت به این دو محیط به ترتیب ۴/۱۲ و ۱/۱۷ برابر بیشتر بود. Shanjani (2003) گزارش کرد که نیترات و آمونیوم منبع اصلی نیتروژن در محیط کشت است، ولی نیترات به دلیل سهولت در جذب و غیر سمی بودن نسبت به آمونیوم منبع بهتری از نیتروژن می باشد.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (بنزیل آمینو پورین و تیدیازوران) بر تعداد برگ MA×MA60.

Table 4. Mean comparison interaction effect of medium culture and plant growth regulators (BAP and TDZ) on the leaf number of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Leaf number		
		MS	WPM	DKW
BAP	0	7.33^{g}	5.00^{g}	4.33^{g}
	1	16.33^{bc}	12.00^{de}	10.33^{de}
	2	20.33^{a}	16.33^{bc}	14.33^{dc}
TDZ	0	7.33^{g}	5.00^{g}	4.33^{g}
	1	15.67^{bcd}	10.33^{ef}	10.00^{ef}
	2	18.67^{ab}	15.00^{bcd}	12.67^{cde}

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability level.

اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کیفیت ریزنمونه

نتایج حاصل از اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر کیفیت ریزنمونه در مرحله‌ی پرآوری نشان داد بین فاکتورها تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به‌طوری‌که بیش ترین کیفیت ریزنمونه در محیط کشت MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین و کم‌ترین کیفیت ریزنمونه در شاهد بدست آمد (جدول ۵). در ریزازدیادی پایه‌های مختلف درختان میوه از محیط‌های کشت متفاوتی استفاده شده است. انواع مختلف ناهنجاری‌های رشد، نظیر کلروز برگ‌ها، تولید اتیلن، مردن بافت انتهای برگ‌ها، آبکی شدن و قهوه‌ای شدن بافت‌ها به نحوی با محیط کشت در ارتباط می‌باشند (Hatchinson *et al.*, 2000). در این پژوهش مشخص شد نوع محیط کشت تاثیر به سزایی بر پرآوری موفق و کیفیت ریزنمونه‌ها داشت، به طوری که زردی، کلروز برگ‌ها و مردن انتهای بافت برگ‌ها از جمله نارسایی‌های رشد بودند که در محیط کشت DKW مشاهده شدند. عواملی مثل رشد سریع گیاهچه‌ها در محیط و تماس نوک برگ‌ها با دیواره ظروف کشت، تجمع رطوبت به صورت قطره در انتهای برخی از برگ‌ها، فاصله‌ی واکشت کردن و کمبود برخی از عناصر غذایی در محیط DKW مانند نیترات می تواند از جمله عوامل کلروز و مردن بافت انتهای برگ‌ها باشد. تنش حاصل از این عوامل باعث فعال‌شدن چرخه تولید اتیلن در گیاه خواهد شد. کلسیم عنصری است که نقش بسیار مهمی در ساختار دیواره‌ی یاخته‌ای دارد، ولی دارای تحرک بسیار کمی در داخل بافت گیاهی بوده و بازده حرکت آن در داخل گیاه تابع تعرق گیاه است و در شرایط درون شیشه‌ای زمانی که میزان رطوبت بالا باشد، تعرق گیاه و در نتیجه جذب کلسیم کاهش پیدا می‌کند و قهوه‌ای‌شدن و مردن بافت‌ها در نتیجه‌ی تجزیه و تخریب یاخته‌ها رخ می دهد. در این پژوهش مشخص شد نوع محیط کشت تاثیر به‌سزایی بر سلامت گیاهچه‌ها و در نتیجه پرآوری موفق ریز نمونه‌ها دارد. این نتایج با یافته‌های Seldak & Paprstin (2008) که محیط کشت MS را برای ریزافزایی رقم‌های گیلاس مناسب تشخیص دادند، مطابقت دارد. Ruzic *et al.* (2000) هم‌چنین بیان نمودند محیط کشت MS سبب جذب فسفر و نیتروژن بالاتر در گیاهچه شده و کیفیت ریزنمونه‌ها را افزایش می دهد.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (بنزیل آمینو پورین و تیدیازوران) بر کیفیت گیاهچه MA×MA60.

Table 5. Mean comparison interaction effect of medium culture and plant growth regulators (BAP and TDZ) on the plantlet quality of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Plantlet quality		
		MS	WPM	DKW
BAP	0	1.00^{d}	1.00^{d}	1.00^{d}
	1	2.2abcd	1.43cd	1.37cd
	2	3.00a	2.53abc	2.10abc
TDZ	0	1.00d	1.00d	1.00d
	1	2.80ab	2.10abcd	1.73abcd
	2	2.53abc	1.60bcd	1.83abcd

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability level.

اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر درصد ریشه‌زایی

نتایج تجزیه واریانس حاصل از آنالیز داده‌ها در مرحله ریشه‌زایی نشان داد اثر متقابل نوع محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۶). بررسی نتایج حاصل از اثر نوع محیط و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر درصد ریشه تشکیل شده در مرحله ریشه‌زایی نشان داد بین فاکتورها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۷۵ درصد) در محیط کشت MS حاوی

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

۳ میلی گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید و کمترین درصد ریشه‌زایی (۱/۶۶ درصد) در محیط کشت DKW بدون تنظیم کننده رشد بدست آمد (جدول ۷). در ریزازدیادی، ریشه‌دار کردن ریز نمونه‌ها اغلب با چالش مواجه می‌باشد. بدین ترتیب اعمال تیمارهای هورمونی مخصوصا اکسین ها برای القاء ریشه‌زایی در گیاهچه‌های درون شیشه‌ای به‌طریقی که تعداد ریشه کافی با اندازه مناسب و بدون تشکیل کالوس تولید کنند و پس از استقرار در خاک توانایی خوب داشته باشند، دارای اهمیت می باشد (Hartmann *et al.*, 1997). Goerge *et al.* (2008) و Hosseinpour et al. (2015) گزارش نمودند که ایندول بوتریک اسید، معمول‌ترین اکسین برای آغازش ریشه می‌باشد. Mansseri-Lamriouri *et al.* (2013) بیان نمودند که درصد ریشه زایی با کاربرد ایندول بوتریک اسید در غلظت ۱ میلی‌گرم بر لیتر در گیلاس وحشی MJ1 افزایش یافت.

جدول ۶. نتایج تجزیه واریانس اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه MA×MA60 در مرحله ریشه‌زایی.

Table 6. Results od variance analysis effect of medium culture and plant growth regulators on the rooting percentage and rooting number of MA×MA60 in the rooting stage.

Source of variation	df	Mean of squares	
		Rooting percentage	Rooting number
Medium culture (a)	2	560.33**	2.33**
Plant growth regulators (b)	3	882.18**	18.17**
a×b	6	43.51**	0.48**
Error	24	1.86	0.19
C.V. (%)		7.95	16.03

** و * به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد.

**, *: Significantly difference at 1% and 5% of probability levels, repectively.

جدول ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (ایندول بوتریک اسید) بر درصد ریشه‌زایی MA×MA60.

Table 7. Mean comparison interaction effect of medium culture and plant growth regulators (IBA) on the rooting percentage of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Rooting percentage		
		MS	WPM	DKW
IBA	0	30.00^{e}	15.00^{g}	1.66^{h}
	1	55.00^{c}	37.50^{d}	12.00^{g}
	2	68.00^{ab}	37.50^{d}	25.00^{f}
	3	75.00^{a}	62.50^{b}	50.00^{cd}

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability.

اثر محیط کشت و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر تعداد ریشه

بررسی نتایج حاصل از اثر متقابل نوع محیط و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد ریشه تشکیل شده در مرحله ریشه‌زایی نشان داد بین فاکتورها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد وجود داشت. بیش‌ترین تعداد ریشه (۵/۳۳) در محیط کشت DKW حاوی ۲ میلی گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید و کمترین تعداد ریشه (۱) در شاهد بدست آمد (جدول ۸). Zhao *et al.* (2014) گزارش نمودند که غلظت‌های بسیار بالای ایندول بوتریک اسید، تعداد و طول ریشه را کاهش می دهد. در آزمایش ما نیز با افزایش غلظت ایندول بوتریک اسید از ۲ به ۳ میلی‌گرم بر لیتر، تعداد ریشه کاهش یافت. Vaez & Salehi (2006) تاثیر غلظت‌های مختلف ایندول بوتریک اسید را بر ریشه‌زایی پایه GF677 مطالعه نمودند و بهترین پاسخ را برای تعداد ریشه در کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید گزارش نمودند.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد (ایندول بوتریک اسید) بر تعداد ریشه MA×MA60.

Table 8. Mean comparison einteraction ffect of medium culture and plant growth regulators (IBA) on the rooting number of MA×MA60.

Treatment	(ppm)	Rooting number		
		MS	WPM	DKW
IBA	0	1.00^{g}	1.00^{g}	1.33^{g}
	1	2.33^{e}	2.00^{f}	2.33^{e}
	2	4.33^{b}	3.67^{c}	5.33^{a}
	3	2.67^{de}	3.00^{d}	4.00^{bc}

در هر ستون میانگین هایی با حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال یک درصد تفاوت معنی داری ندارند.

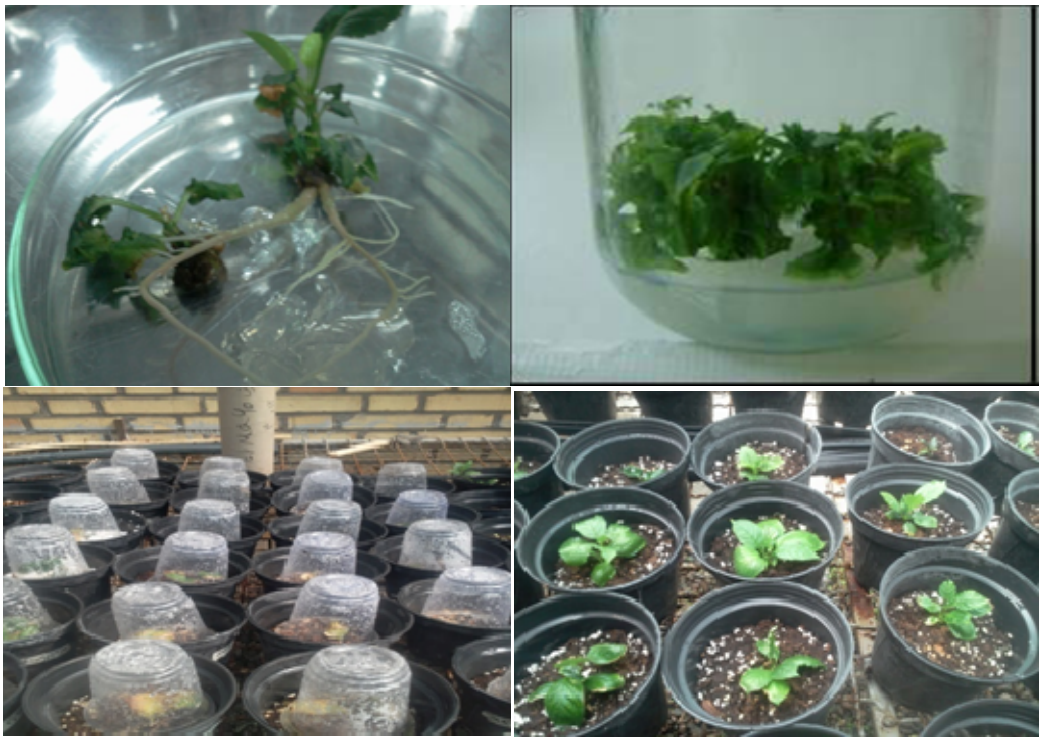
In each column means followed by a least a common letter, are not significantly different at 1% probability level.

سازگاری

سازگاری مستقیما تحت تاثیر شرایط ریشه‌دهی قرار گرفت. حداکثر بقا در گیاهانی دیده شد که در مدت زمان کمی از ظهور ریشه در محیط کشت ریشه‌زایی به گلدان منتقل شدند. گیاهان دارای ریشه‌های مسن‌تر و به رنگ قهوه‌ای سازگاری بالاتری نسبت به گیاهان جوان‌تر و ریشه سفید داشتند (شکل ۱). نتایج نشان دادند که پس از سپری‌شدن دو ماه، میزان سازگاری حدودا ۷۵ درصد بود. بنابراین، سازگاری مستقیما تحت تاثیر گیاهان ریشه‌دار شده با کیفیت بالا قرار گرفت (Mahdavian *et al.*, 2010; Shabani *et al.*, 2015).

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir



شکل ۱. مراحل ریزازدیادی پایه گیلاس MA60×MA

Figure 1. The micropropagation stages of MA60×MA sweet cherry rootstock

نتیجه گیری کلی

در این تحقیق ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت DKW برای تمام صفات مورد مطالعه (تعداد و طول شاخه و میزان کیفیت ریزنمونه)، پاسخ ضعیف‌تری نسبت به محیط‌های کشت MS و WPM نشان دادند. در مرحله پرآوری، محیط کشت MS با غلظت ۲ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینو پورین بیشترین تاثیر را بر تعداد شاخه، تعداد برگ و کیفیت ریزنمونه داشت و در مرحله ریشه زایی، محیط کشت MS با غلظت ۳ میلی‌گرم بر لیتر ایندول بوتریک اسید بیش‌ترین تاثیر را بر ریشه‌زایی نشان داد.

REFERENCES

1. Bolandi, A.R., Hamidi, H. & Rezagholy, A.A. (2017). Effects of culture media and growth regulators on propagation of rootstock GF677 in tissue culture conditions. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 29 (1), 1-14. (In Farsi).
2. Bošnjak, A.M., Kereša, S., Jerčić I.H. & Barić, M. (2012). The effect of cytokinin type and explant orientation on axillary shoot proliferation and *in vitro* rooting of 'Gisela 5'cherry rootstock. *Journal of Food, Agriculture & Environment*, 10, 616-620.
3. Bouzari, N., Shafiei, R., Hossienpour, B. & Hosseini, S.S. (2020). Effect of culture media and plant growth regulators on micropropagation of two Prunus rootstocks (CAB-6P and JASPI). Irainian Journal of Horticultural Science, 50 (4), 851-864. (In Farsi)
4. Carolina, A., paula, M., Pijut, C. & Michler, H. (2006). Adventitious shoot regeneration and rooting of prunus serotina *in vitro* culture. *Horticulture Sciences*, 41(1), 193-201.
5. Daneshvar Hossini, A., Ganji Moghadam, E. & Anahid, S. (2010). Effects of media culture and plant growth regulators in micro propagation of Gisela 6 rootstock. *Annals of Biological Research*, 1(2), 135-141.
6. Driver, J.A. & Kuniyuki, A.H. (1984). *In vitro* propagation of paradox walnut rootstock. *Horticultural Sciences*, 19 (4), 507-509.
7. Erbenova, M., Paprstein, F. & Sedlak, J. (2001). *In vitro* propagation of dwarfed rootstocks for sweet cherry. *Acta Horticulture*, 560, 477-480.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

8. Fallahpour, M., Miri, S.M. & Bouzari, N. (2015*). In vitro* propagation of 'Gisela 5'rootstock as affected by mineral composition of media and plant growth regulators. *Journal of Horticultural Research*, 23, 57-64.
9. Fallahpour, M., Miri, S.M. & Bouzari, N. (2015). Effect of media culture and plant growth regulators on micropropagation of CAB-6p cherry semi-dwarf rootstock. *Irainian Journal of Horticultural Science*, 50 (1), 187-196. (In Farsi).
10. Ganji Moghadam, E., Bolandi, A.R. & Anahid, S. (2008). Micropropagation of four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. *Pajouhesh and Sazandegi*, 79, 54-61. (In Farsi).
11. Ganji Moghaddam, A., & Abdollahzadeh Gonabadi, A. (2008). Rootstock guide: (apple, pear, sweet cherry and prune. (2th ed.). *Education and Agicultural Extension*, Pp. 265. (In Farsi).
12. Ganji Moghadam, E. & Bouzari, N. (2018). *The handbook of sweet cherry.* (3th ed.). Education and Agicultural Extension, Pp. 312. (In Farsi).
13. George E. F., Hall, M. A. & De Klerk G.-J. (2008). "The components of plant tissue culture media I: macro- and micro-nutrients," in Plant Propagation by Tissue Culture, eds George E. F., Hall M. A., Klerk G. J. D. (Dordrecht: Springer Netherlands;), 65-113.
14. Hosseinpour, B., Bouzari, N., Didar, Z., Masoumian, M., Ghaemmaghami, S.A., Ebrahimi, A., Mirabbasi, S.M. & Farvardin, A. (2015). High frequency in vitro propagation of M × M60, a cherry rootstock: the effects of culture media and growth regulators. *Iranian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 4 (2), 28-36. (In Farsi).
15. Hartmann, H.T., Kester, D.E., Daviesm, F.T. & Geneve, R.L. (1997). *Plant propagation principles and practices*. *Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall*, pp. 770.
16. Hutchinson, M.J., Senaratna, T.S.V. & Sahi, P.K. (2000). Saxena light mediates endogenous plant growth substances in thidiazuron-induced somatic embryogenesis in geranium hypocotyl cultures. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 9, 1-6.
17. Lloyd, G. & McCown. B.H. (1980). Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, (Kalmia latifolia) by use of shoot tip culture. *Proceedings of the International Plant Propagators Society*, 30, 421-427.
18. Mahdavian, M., Bouzari, N. & Abdollahi, H. (2011). Effects of culture media and growth regulators on proliferation and rooting of a vegetative Mahlab rootstock (SL-64). *Seed and Plant Improvement Journal*, 26 (1), 15-26. (In Farsi).
19. Massai, R. & Loreti F. (2004). Preliminary observations on nine peach rootstocks grown in a replant soil. *Acta Horticulturae*, 658, 185-192.
20. Mansseri-Lamrioui, A., Louerguioui, A., Bonaly, J., Yakoub-Bougdal, S., Allili, N. & Gana-Kebbouche S. (2013). Proliferation and rooting of wild cherry: The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. *African Journal of Biotechnology*, 10, 8613-8624.
21. Moghri, S., Garmarudi, H.S., & Ashkan, S.M. (2014). In-vitro evaluation of resistance of some commercial plum genotypes to phytophthora rot disease. *Journal of Applied Botany*, 3 (3), 215-223.
22. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.
23. Nordstrum, A.P., Tarkowski, D., Tarkowska, R., Norbeak, C., Astot, K. & Dolzel, G.S. (2004). Auxin regulation of cytokinins biosynthesis in the *Arabidopsis thaliana*. A factor of potential importance for auxin-cytokinins regulated development. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101 (21), 8039-8044.
24. Pinochet, J., Fernandez, C., Cunill, M., Torrents, J., Felipe, A., Lopez, M.M., Lastra, B. & Penyalver, R. (2002). Response of new interspecific hybrids for peach to root-knot and lesion nematodes, and crown gall. *Acta Horticulturae*, 592, 707-716.
25. Perez-Tornero, O., Burgos, L., Egea, I. & Lopez, J.M. (2000). Apricot meristem tip culture. *Acta Horticulturea*, 488: 417.
26. Pruski, K. W., Lewis, T. Astatkie, T. & Nowak, J. (2000). Micropropagation of chokecherry and pincherry cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 93-100.
27. Ruzic, D.j., Saric, M., Cerovic, R. & Ćulafic, L.J. (2000). Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 *in vitro. Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63, 9-14.
28. Ružić, D.V., & Vujović, T. (2008). The effects of cytokinintypes and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry cv. Lapins (*Prunus avium* L.). *Horticultural Science*, 35, 12-21.
29. Sedlak, J. & Paprštein, F. (2008). *In vitro* shoot proliferation of sweet herry cultivars Karešova and Riva. *Horticultural Science (Prague)*, 35 (3), 95-98.

Archive of SID.ir

Archive of SID.ir

30. Shabani, Z., Ganji Moghadam, E., Abedi, B. & Tehranifar, A. (2015). The effect of plant growth regulators and their concentration *in vitro* on mass propagation of Myrobalan 29C rootstock. *Journal of Horticulture and Forestry*, 7(3), 57-64.
31. Shanjani, P.S. (2003). Nitrogen effects on callus induction and plant regeneration of *Juniperus excelsa. International Journal of Agriculture and Biology*, 5, 419-422.
32. Sulusoglu, M. (2002). *In vitro propagation of cherry rootstock.* Ph.D. Thesis. Ankara University, Turkey.
33. Sulusoglu, M. (2012). Development of embryo culture protocol for cherry laurel (*Prunus laurocerasus* L.). *Journal of Food Agriculture and Environment*, 10, 47-352.
34. Tsafouros, A. & Roussos, P.A. (2019). First report of Krymsk®5 (cv. VSL 2) cherry rootstock *in vitro* propagation: Studying the effect of cytokinins, auxins and endogenous sugars. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 47 (1), 152-161.
35. Vaez, B. & Salehi, Z. (2006). *In vitro* rooting of hybrid GF677 (*P. dulcis*×*P. persica*). *Acta Horticulturae*, 726, 171-178.
36. Zilkah, S., Faingersh, E. & Rotbaum A. (1991). *In vitro* propagation of three M×M (*P. avium* × *P. mahaleb*) cherry rootstocks. *Acta Horticulture*, 314, 201-208.
37. Zhao, X., Zheng, H., Li, S., Yang, C., Jiang, J. & Liu, G. (2014). The rooting of poplar cuttings: a review. *New Forest*, 45, 21-34.

Archive of SID.ir