Archive of SID

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و هفتم، شماره دوم، ۱۳۹۹
۴۳-۵۷
http://jopp.gau.ac.ir
DOI: 10.22069/jopp.2020.16019.2442

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی پایه‌رویشی GF677 در شرایط محیط‌کشت مایع

*محمد گردکانه[۱]، مریم محمدی[۲]، هدیه بدخشان[۳] و عیسی ارجی[۱]

[۱]بخش تحقیقات علوم زراعی و باغی، مرکز تحقیقات، آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران،

[۲]دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران،

[۳]گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۹/۲٤؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰۷/۰۳

چکیده

سابقه و هدف: پایه GF677 (دورگ بین هلو و بادام)، یک پایه مناسب برای هلو، شلیل و بادام است که به‌طور گسترده در سراسر دنیا استفاده می‌شود. به‌دلیل کارایی کم ازدیاد از طریق قلمه، کشت‌بافت روشی مناسب و سریع برای ازدیاد این پایه است. در محیط مایع تماس بافت گیاهی با محیط‌کشت بهتر، تکثیر سریع‌تر و هزینه تولید کاهش می‌یابد. بنابراین هدف این پژوهش بهبود پرتکل ریزازدیادی پایه GF677، با استفاده از محیط‌کشت مایع بود.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ریزنمونه‌های گره ضدعفونی شده در محیط‌کشت‌های MS، B_5 و WPM در حالت مایع حاوی هورمون‌های BA (بنزیل‌آدنین)، در پنج غلظت ۰/۲۵، ۰/۵، ۱، ۲ و ٤ میلی‌گرم بر لیتر و IBA (ایندول-۳- بوتیریک اسید)، در چهار غلظت ۰، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر بررسی شد. اجرای طرح بر اساس فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و مقایسات میانگین داده‌ها به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

یافته‌ها: حداکثر تعداد شاخساره (۲/٤٤ شاخساره) در محیط مایع WPM با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و بلندترین طول شاخساره‌ها در محیط‌کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA در محیط‌کشت B5 مشاهده شد. این مطالعه نشان داد تعداد شاخساره با افزایش غلظت BA تا غلظت مشخصی افزایش یافت. به‌نظر می‌رسد که بین غلظت BA و تعداد شاخساره تا یک غلظت خاصی از BA، رابطه مثبتی وجود دارد به‌طوری‌که تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به بیش‌ترین تعداد خود رسید. در غلظت‌های بالاتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP، تعداد شاخساره‌ها کاهش یافت. به‌نظر می‌رسد پایه GF 677 دارای مقادیری از تنظیم‌کننده‌های رشد به‌صورت درون‌زا باشند، به‌طوری‌که کاربرد غلظت کمی از تنظیم‌کننده‌های رشد برون‌زا برای پرآوری آن‌ها کافی است. همچنین مقدار مشخصی از BA برای به‌دست آوردن بیش‌ترین باززایی مورد نیاز است و غلظت‌های بالاتر BA سبب ایجاد مقدار زیادی کالوس می‌شود که در کشت‌بافت برای تولید شاخساره مناسب نیست. جهت ریشه‌زایی، شاخساره‌ها را به محیط‌کشت MS جامد حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA منتقل و ۳۳ درصد ریشه‌زایی حاصل شد. گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در محیط شامل پرلیت، ماسه و خاک به نسبت ۱:۲:۱ قرار گرفتند. نتایج نشان داد ۹۰ درصد نمونه‌های انتقال یافته به محیط خاکی زنده مانده و رشد طبیعی داشتند.

* مسئول مکاتبه: mgerdakaneh@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری: ریزازدیادی پایه GF677 تحت‌تأثیر محیط‌کشت (MS، B5 و WPM) و تنظیم‌کننده‌های رشد قرار گرفت. محیط‌کشت WPM همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با صددرصد باززایی ریزنمونه‌ها و تولید بیش‌ترین تعداد شاخساره (۲/٤٤ شاخساره)، مناسب‌ترین محیط‌کشت در بین سایر محیط‌های کشت مورد استفاده بود.

واژه‌های کلیدی: پایه‌رویشی، تنظیم‌کننده رشد، ریزازدیادی، محیط‌کشت

مقدمه

پایه‌رویشی GF677 که هیبریدی از هلو و بادام می‌باشد، به‌عنوان یکی از پایه‌های بسیار مناسب برای بادام و هلو در دنیا شناخته شده و مورد استفاده قرار گرفته است (۳۸). پایه GF677 یکی از اولین پایه‌هایی است که توسط ریزازدیادی تکثیر شده و ازدیاد آن از طریق قلمه به‌دلیل توانایی بسیار پایین در ریشه‌زایی کار دشواری است (۸). تکثیر تجاری گیاهان از طریق کشت‌بافت، گسترده‌ترین استفاده از این فناوری است (٤۲). ریزازدیادی گیاهان چوبی در مقایسه با گونه‌های علفی به‌دلیل مشکلات بیش‌تری که در کشت آن‌ها وجود دارد کم‌تر مورد استفاده قرار گرفته است (۲۷). ریزازدیادی موجب تکثیر سریع گونه‌های گیاهی در زمان و فضای محدود شده و به‌طور گسترده‌ای در ازدیاد پایه‌های رویشی و ارقام هسته‌دارها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲۰).

در کشت درون‌شیشه ای، ترکیب محیط‌کشت روی رشد گیاهچه مؤثر است و این تأثیر ناشی از ترکیب نمک‌های موجود در محیط‌کشت می‌باشد (۳۳ و ۳۵). در پژوهش آندرو و مارین (۱۰) نتایج نشان داد که ترکیب محیط‌کشت روی میزان پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دارها تأثیر دارد. ضیا الحسن و همکاران (٤۵) تأثیر دو محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) و لپیور (Lp) را با غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد BAP و NAA روی پایه GF677 مورد بررسی قرار دادند، نتایج نشان داد که بیش‌ترین شاخه‌زایی با استفاده از محیط MS حاصل شد. بنزیل‌آدنین (BA)، یکی از مؤثرترین سایتوکینین‌ها است و بیش‌ترین استفاده در ریزازدیادی هسته‌دارها دارد (۱۳ و ٤٤). نظری‌مقدم و یداللهی (۲۹) تأثیرات ۵ غلظت BAP (۰، ۰/۱، ۰/٦، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) در محیط MS را بر روی GF677 مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند که بیش‌ترین طول و تعداد شاخه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. نتایج آکبا و همکاران (۱) نشان داد که بیش‌ترین تعداد شاخساره، ارتفاع شاخساره، تعداد گره و تعداد برگ بادام در محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد. شریف‌مقدم و همکاران (۳۷) گزارش کردند که بیش‌ترین تعداد شاخساره و ارتفاع شاخساره، در محیط‌کشت MS با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد.

محیط‌کشت مایع به‌منظور ریزازدیادی نسبتاً کم‌تر استفاده می‌شود. بااین‌حال مزیت اصلی این روش مقرون به صرفه بودن آن است (۳). روش کشت مایع، محیط یکنواخت‌تری را برای رشد فراهم می‌کند. از طرف دیگر استریل نمودن محیط‌کشت مایع با استفاده از فیلتر به آسانی امکان‌پذیر است. در مقایسه با کشت‌های نیمه‌جامد، در این روش می‌توان از ظروف بزرگ‌تری استفاده نمود و افزایش زمان انتقال بهره برد (۱٦). استفاده از کشت‌های مایع برای کاهش زمان و نیروی کار توصیه می‌شود. حرکت دائم محیط کشت در چنین روشی امکان بهتر رسیدن اکسیژن و مواد غذایی به بافت‌ها را فراهم کرده و میزان رشد و تکثیر شاخه‌ها در این روش به‌دلیل بهبود هوادهی افزایش می‌یابد (۲٦). علاوه بر مزایا آماده‌سازی محیط مایع و

www.SID.ir

Archive of SID

کار با روش کشت‌های مایع در حال حرکت در مقایسه با محیط‌های نیمه‌جامد راحت‌تر است و نیاز به نیروی کار کم‌تری دارد (٤) با توجه به مزایای استفاده از محیط‌کشت مایع، هدف از اجرای این پژوهش، بهینه‌سازی پرتکل ریزازدیادی پایه رویشی هیبرید هلو– بادام GF 677، با استفاده از نوع و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط‌های‌کشت MS، B_5 و WPM در حالت مایع می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: شاخه‌های جانبی پایه GF677 از باغ کلکسیون مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع‌طبیعی استان کرمانشاه واقع در شهرستان کرمانشاه تهیه و به آزمایشگاه منتقل شدند.

ریزازدیادی جوانه‌ها: برای تهیه ریزنمونه، شاخه‌های جانبی جوان به‌اندازه ۱/۵ تا ۲ سانتی‌متر از شاخه‌ها جدا شدند و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی به‌مدت ۱۵ دقیقه در زیر جریان آب شسته شدند، سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه نمونه‌ها را در محلول ۲ در هزار قارچ‌کش بنومیل قرار داده و بعد آن‌ها را در زیر هود لامینار به‌مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد قرار داده و توسط هیپوکلریدسدیم ۱ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. جهت حذف بقایای ماده ضدعفونی‌کننده از سطح ریزنمونه‌ها، سه بار با آب دوبار تقطیر استریل شستشو داده شدند. محیط‌های‌کشت MS، B5 و WPM مایع حاوی ۳ درصد ساکارز، همراه با تنظیم‌کننده‌های رشد BA در پنج غلظت (۰، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ ، ۲ و ٤ میلی‌گرم در لیتر) و IBA در چهار غلظت (۰، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) تهیه شدند. pH محیط‌کشت قبل از اتوکلاو کردن، با استفاده از NaOH ۰/۱ مولار بر روی ۵/۸ تنظیم گردید.

محیط‌های‌کشت را به مقدار ۲۵ میلی‌لیتر در ظروف شیشه‌ای توزیع کرده و به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن محیط‌های‌کشت در زیر هودلامینار، جوانه‌های استریل، بر روی آن‌ها کشت شدند. آزمایش با سه تکرار انجام شد و در هر ظرف سه ریزنمونه کشت شد و بلافاصله پس از بستن درب شیشه‌ها، توسط پارافیلم درب آن‌ها کاملاً مسدود گردید تا در اتاقک رشد دچار آلودگی نشوند. سپس کشت‌ها در اتاقک رشد تحت شرایط ١٦ ساعت نور فلورسنت سرد و ٨ ساعت تاریکی در دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. در نهایت، تعداد روز مورد نیاز جهت شروع باززایی ثبت گردید و پس از ٦ هفته بعد از کشت، درصد ریزنمونه‌های باززایی‌شده، تعداد شاخساره‌های تولید شده، طول ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ، طول و پهنای برگ ریزنمونه‌های باززایی شده اندازه‌گیری شد.

ریشه‌زایی شاخساره‌ها: برای ریشه‌زایی از محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ BA حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار استفاده شد. pH محیط‌کشت با استفاده از NaOH ۰/۱ مولار بر روی ۵/۸ تنظیم گردید. محیط‌های‌کشت را به مقدار ۳۰ میلی‌لیتر در ظروف شیشه‌ای توزیع کرده و به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن محیط‌های‌کشت در زیر هود لامینار، شاخساره‌های حاصل از آزمایش اول را جدا کرده و بر روی این محیط قرار داده شدند.

انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دارشده به محیط سازگاری: گیاهچه‌های ریشه‌دارشده را به‌دقت از محیط‌کشت جداسازی نموده و به‌تدریج با آب ملایم جهت حذف بقایای محیط‌کشت چسبیده به ریشه‌ها شسته شدند و در محلول ۱ در هزار قارچ‌کش به‌مدت ۱۵–۱۰ دقیقه قبل از انتقال، ضدعفونی‌شده و به گلدان با ترکیب پرلیت، ماسه و خاک به نسبت ۱:۲:۱ انتقال داده شدند و این گیاهان به‌مدت ۲ هفته در اتاقک رشد در دمای ۱ ± ۲۰ درجه سانتی‌گراد، با شدت نور ۲۰۰۰ لوکس و دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی، با رطوبت ۸۰ درصد نگهداری گردیدند.

www.SID.ir

Archive of SID

تجزیه‌های آماری: در این پژوهش داده‌های حاصل از یادداشت‌برداری صفات مختلف براساس روش آماری فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار، تجزیه و تحلیل گردید. مقایسات میانگین داده‌ها به روش آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزارهای MSTAT-C، استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که، اثر عامل اصلی محیط‌کشت، بر روی صفات سرعت باززایی، درصد باززایی ریزنمونه، تعداد شاخساره، طول ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ، طول و پهنای برگ ریزنمونه‌های باززایی شده در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر اکسین (IBA) روی سرعت باززایی، درصد باززایی ریزنمونه، طول ساقه، قطر ساقه، تعداد برگ، پهنای برگ ریزنمونه‌های باززایی شده در سطح احتمال ۱ درصد و روی صفت طول برگ در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر عامل اصلی سایتوکینین (BA) روی همه صفات در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد.

اثرات متقابل محیط‌کشت × IBA، محیط‌کشت × BA و BA × IBA و اثر متقابل محیط‌کشت × BA × IBA در سطح ۱ درصد در تمامی صفات مورد بررسی معنی‌دار بودند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر نوع محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر صفات مختلف شاخساره پایه‌رویشی GF677.

Table 1. Analysis of variance the effect of culture medium and growth regulatoron shoot diffrent traits of GF677 rootstock.

منبع تغییرات S.O.V.	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS							
		سرعت باززایی Regeneration rate	درصد باززایی Percentage of regeneration	تعداد شاخساره Shoot number	طول ساقه Shoot length	قطر ساقه Shoot diameter	تعداد برگ Leaf number	طول برگ Leaf length	پهنای برگ Leaf width
A	2	191.61**	3677.12**	0.72**	59.78**	0.73**	90.01**	318.72**	8.57**
B	3	1.81**	792.12**	0.05*	5.12**	0.81**	7.81**	9.08*	3.86**
C	4	2.60**	945.74**	0.16**	9.61**	0.44**	8.39**	191.41**	5.10**
A ×B	6	19.14**	1124.17**	0.35**	5.44**	0.62**	10.29**	220.86**	2.95**
A × C	8	8.68**	2008.15**	0.17**	16.35**	0.73**	16.28**	173.07**	2.66**
B × C	12	4.41**	876.19**	0.10**	9.77**	0.98**	16.95**	123.36**	3.83**
A × B × C	24	4.88**	1771.34**	0.24**	15.23**	0.78**	18.58**	100.99**	3.54**
خطای آزمایش Error	120	0.22	43.11	0.01	0.09	0.02	0.17	5.44	0.12
ضریب تغییرات (درصد) CV%		3.56	9.19	10.64	9.34	11.13	8.04	10.70	8.81

^{ns}، *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد.

^{ns}, *, ** non-significant, significant in the level 5% and 1%, respectively.

A= Culture medium (محیط‌کشت), B= IBA (indole-3-butyric acid), C=BA (benzyl adenine).

www.SID.ir

Archive of SID

سرعت باززایی: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که سرعت باززایی ریزنمونه‌ها با توجه به نوع محیط‌کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف متفاوت بود و تشکیل شاخساره‌های نابجا در ریزنمونه‌ها در محیط‌کشت مایع بین ۹ تا ۱۶ روز بعد از انتقال به محیط‌کشت باززایی صورت گرفت. در محیط مایع، محیط‌کشت B5 همراه با ٤ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و محیط‌کشت MS با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و IBA صفر، ریزنمونه‌ها از سرعت باززایی بیش‌تری برخوردار بودند اما ریزنمونه‌هایی که در محیط‌کشت WPM با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و در محیط‌کشت WPM همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA قرار داشتند، دیرتر شروع به باززایی کردند (جدول ۲). رشد طبیعی گیاهان به مقادیر هورمونی و نوع آن‌ها بستگی دارد. هر دو هورمون اکسین و سایتوکینین در اندام‌زایی مهم هستند و به‌عنوان تسهیل‌کننده این فرایند عمل می‌کنند (۲۱). به خوبی شناخته شده است که سیتوکنین موجب تقسیم سلولی و گسترش سلول در گیاه می‌شود. BAP به‌عنوان یک سیتوکنین مصنوعی در ترکیب با اکسین در ریزازدیادی میوه‌های خشک (۳۵)، هیبرید PR 204/84 (هلو × بادام) (۱۹) گیلاس (۱۸) در شرایط کشت‌بافت با نتایج خوبی همراه بوده است. 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 (۲٤). شریفی‌مقدم و همکاران (۳۷) در پژوهشی، در بهینه‌سازی محیط‌کشت پایه‌های GF677 را برای تولید انبوه پایه بادام مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که بهترین غلظت تنظیم‌کننده‌های رشدی برای شروع ساقه‌زایی، MS + ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA (ایندول-۳-بوتیریک اسید) +۲ میلی‌گرم در لیتر BA (بنزیل‌آدنین) بود.

درصد باززایی ریزنمونه‌ها: نتایج مقایسه میانگین‌ها در محیط مایع نشان داد که تعداد زیادی از ریزنمونه‌ها، در غلظت‌های مختلف هورمونی، می‌توانند به‌صورت صددرصد باززایی نمایند، اما در کیفیت و زمان باززایی بین آن‌ها تفاوت‌های معنی‌داری وجود داشت. به‌طوری‌که الف: در محیط‌کشت MS با ۰/۵ و ٤ میلی‌گرم در لیتر BA.ب: در محیط‌کشت B5 با ۰/۲۵و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵، ۰/۵و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA. ج: در محیط‌کشت WPM با ۱ و ٤ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA بیش‌ترین درصد باززایی (۱۰۰ درصد) و در محیط MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA کم‌ترین درصد باززایی را داشتند (جدول ۲). نوع و مقدار بعضی از عناصر غذایی پرمصرف در محیط‌های‌کشت WPM، MS و B5 متفاوت است. عناصر کم‌مصرفی هم‌چون ید و کبالت و نوع ویتامین‌ها نیز بین این محیط‌ها متفاوت است. این تفاوت‌ها در زرد شدن گیاهچه‌های مؤثر بوده است. به‌نظر می‌رسد پایه مورد مطالعه نیاز غذایی خاصی دارد، به‌طوری‌که به کمبود عناصر غذایی و نوع و مقدار آن‌ها حساس است. همچنین در محیط مایع به‌دلیل تماس نزدیک بافت گیاهی با محیط‌کشت، سرعت جذب مواد غذایی و هورمون‌های گیاهی و در نتیجه سرعت باززایی گیاهچه‌های رشدیافته در روش مایع افزایش می‌یابد (۳٦ و ٤۱). یکی از موادی که به‌شدت توسط آگار جذب می‌شود سایتوکینین است بنابراین آگار می‌تواند جذب سایتوکینین از

www.SID.ir

Archive of SID

محیط‌کشت را با مشکل مواجه کند، بنابراین ریزنمونه سایتوکینین را در محیط مایع بهتر جذب می‌کند (۷). بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که تفاوت تأثیر هورمون‌های مختلف سایتوکینین مربوط به جذب سایتوکینین، توسط سلول‌ها و یا سازوکار عملکرد ترکیبات سایتوکینین‌ها باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر سرعت باززایی و درصد باززایی ریزنمونه‌های GF677.

Table 2. Mean comparison the effect of culture medium and growth regulators on regeneration rate and percentage of GF677 explants.

درصد باززایی Percentage of regeneration			سرعت باززایی (روز) Regeneration rate (days)			تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth Regulators (mg / L)	
نوع محیط‌کشت Type of culture medium			نوع محیط‌کشت Type of culture medium			سایتوکینین (BA) Cytokinin(BA)	اکسین (IBA) Auxin (IBA)
WPM	MS	B5	WPM	MS	B5		
44.44 ef	11.11 g	100.00 a	15.33 abc	10.00 h-k	14.33 cd	0.25	
55.55 de	100.00 a	55.55 de	14.33 cd	9.00 k	14.00 d	0.5	
100.00 a	33.33 f	100.00 a	15.33 abc	10.00 h-k	14.67 bcd	1	0
77.77 bc	66.66 cd	88.89 ab	14.00 d	10.33 g-k	15.00 a-d	2	
100.00 a	100.00 a	55.55 de	15.00 a-d	11.00 efgh	14.00 d	4	
66.66 cd	44.44 ef	88.89 ab	15.67 ab	10.33 g-j	12.00 e	0.25	
44.44 ef	55.55 de	100.00 a	14.00 d	14.33 cd	14.00 d	0.5	
33.33 f	77.77 bc	77.77 bc	15.33 abc	10.67 f-i	9.33 jk	1	0.1
77.77 bc	44.44 ef	88.89 ab	16.00 a	10.67 fghi	14.00 d	2	
66.66 cd	66.66 cd	44.44 ef	15.00 a-d	15.00 a-d	9.00 k	4	
100.00 a	77.77 bc	100.00 a	14.00 d	14.67 bcd	14.33 cd	0.25	
66.66 cd	44.44 ef	100.00 a	14.67 bcd	11.00 e-h	14.00 d	0.5	
66.66 cd	66.66 cd	44.44 ef	14.33 cd	11.67 ef	14.67 bcd	1	0.25
33.33 f	77.77 bc	100.00 a	15.67 ab	11.67 ef	14.33 cd	2	
66.66 cd	88.89 ab	88.89 ab	15.00 a-d	11.33 efg	9.66 ijk	4	
66.66 cd	77.77 bc	100.00 a	16.00 a	11.33 efg	14.00 d	0.25	
88.89 ab	44.44 ef	77.77 bc	14.00 d	10.67 f-i	15.00 a-d	0.5	
77.77 bc	44.44 ef	33.33 f	15.00 a-d	11.33 efg	14.00 d	1	0.5
100.00 a	88.89 ab	55.55 de	14.00 d	11.00 e-h	15.00 a-d	2	
77.77 bc	88.89 ab	77.77 bc	15.00 a-d	10.67 f-i	14.00 d	4	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different by LSD test ($P \leq 0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد شاخساره: در محیط مایع حداکثر تعداد شاخساره (۲/٤٤ شاخساره) در محیط WPM با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA (شکل ۱) و حداقل تعداد شاخساره در محیط MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد (جدول ۳). با توجه به این‌که محیط‌کشت‌های مختلف از نظر نوع و غلظت بعضی از املاح و ترکیبات با یکدیگر متفاوت می‌باشند، بنابراین رشد و نمو ریزنمونه‌های مستقر شده روی این محیط‌ها با یکدیگر متفاوت بوده که با شناخت این تفاوت‌ها می‌توان محیط مطلوب برای هدف موردنظر را شناسایی کرد. سایتوکینین با تحریک فعالیت مریستیم‌های جانبی، منجر به تشکیل شاخساره می‌گردد (۱۷). تقسیم سلولی، پرآوری شاخساره و تشکیل جوانه جانبی می‌تواند توسط سایتوکینین BA ایجاد گردد (۳۹). تأثیر سایتوکینین‌ها روی کشت‌های بافت یا سلول می‌تواند بر اساس بر نوع کشت، نوع و سن گیاه متفاوت باشد. هم‌چنین گزارش شده است که BA در غلظت‌های کم از ۰/۵ تا ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر مورد نیاز است (۲۲ و ٤۳). منگوزی و همکاران (۲۸) گزارش نمودند که ۱ میلی‌گرم در لیتر بیش‌ترین تعداد شاخساره را در پایه رویشی 'G. 814' سیب ایجاد نمود. اکبرپور و همکاران (۲) گیاهچه‌های پنج رقم تجاری بادام (سوپرنوا، تونو، سهند، فراگنس و شاهرود ۲۱) برای باززایی در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP و سپس در محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در هر لیتر BAP زیرکشت کردند که با نتایج این پژوهش هم‌سو می‌باشند.

طول شاخساره: در محیط مایع، بیش‌ترین طول شاخساره در محیط‌کشت B5 با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و کم‌ترین طول شاخساره‌ها در محیط‌کشت MS و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد (جدول ۳). نقش و اثر BA در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید است، بنابراین با افزایش غلظت بنزیل‌آدنین در محیط شاخساره‌های بیش‌تر اما کوتاه‌تری تولید می‌شوند. (۳٤). هورمون اکسین موجب رشد طولی سلول‌های ساقه می‌شود، اگر غلظت اکسین بیش از حد زیاد شود اثر سمی دارد (۱۱). در پژوهشی تاتاری و همکاران (٤۱) به این نتیجه رسیدند که با توجه به این‌که BAP باعث افزایش تقسیم سلولی می‌شود می‌توان گفت نسبت بالای BAP به NAA در طویل شدن گیاهچه‌ها مؤثرتر از نسبت‌های کم‌تر این دو نوع تنظیم‌کننده رشد است. علی و همکاران (۵) اثر محیط‌کشت گیاهان چوبی (WPM) و محیط کشت زیتون (OM)، جهت پراوری زیتون رقم 'Moraiolo' بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که محیط‌کشت زیتون (OM)، نسبت به محیط‌کشت گیاهان چوبی (WPM) در ایجاد شاخساره قوی مؤثرتر بود. محیط‌کشت OM تولید شاخساره‌های سبز سالم و یکنواخت نمود، در حالی‌که شاخساره‌ها در محیط‌کشت WPM کوچک و غیرعادی بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد و طول شاخساره GF677.

Table 3. Mean comparison the effect of culture medium and growth regulators on shoot numberand shoot length of GF677 explants.

طول شاخساره (میلی‌متر) Shoot length (mm)			تعداد شاخساره Shoot number			تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth Regulators (mg / L)	
نوع محیط‌کشت Type of culture medium			نوع محیط‌کشت Type of culture medium			سا یتوکینین (BA) Cytokinin(BA)	اکسین (IBA) Auxin (IBA)
WPM	MS	B5	WPM	MS	B5		
1.53 n-r	0.56 qr	8.10 c	1.11 bc	0.33 e	1.22 bc	0.25	
1.26 o-r	3.83 jk	3.53 klm	1.00 c	1.22 bc	1.22 bc	0.5	
2.96 m-o	0.33 r	6.43 e	2.44 a	0.22 e	1.33 bc	1	0
3.83 g-l	1.80 r-v	3.80 jk	1.00 c	1.00 c	1.11 bc	2	
5.96 e	3.93 jk	1.43 n-r	1.00 c	0.66 d	1.00 c	4	
3.76 jk	1.36 n-r	2.23 k-q	1.00 c	1.00 c	1.11 bc	0.25	
1.60 s-v	2.40 p-r	3.73 kl	1.00 c	1.11 bc	1.11 bc	0.5	
1.00 w-z	1.50 v-x	4.60 ghi	1.00 c	1.33 bc	1.11 bc	1	0.1
5.26 f	1.66 s-v	4.83 fgh	1.11 bc	1.00 c	1.11 bc	2	
3.80 jk	1.66 s-v	5.20 f	1.00 c	1.00 c	1.00 c	4	
4.86 fgh	1.40 v-y	2.16 q-u	1.00 c	1.00 c	1.11 bc	0.25	
2.50 o-q	1.40 v-y	4.26 ij	1.11 bc	1.00 c	1.22 bc	0.5	
2.46 o-q	1.76 s-v	10.77 a	1.00 c	1.00 c	1.00 c	1	0.25
2.96 m-o	2.20 q-t	1.26 w-y	1.00 c	1.00 c	1.33 bc	2	
5.10 fg	3.50 klm	4.76 fgh	1.11 bc	1.00 c	1.00 c	4	
2.10 q-u	7.33 d	7.23 d	1.00 c	1.00 c	1.22 bc	0.25	
3.13 l-n	2.90 n-p	5.10 fg	1.33 bc	1.00 c	1.00 c	0.5	
5.00 fg	2.53 o-q	1.36 v-y	1.11 bc	1.00 c	1.00 c	1	0.5
2.20 q-t	1.66 s-v	1.86 r-v	1.33 bc	1.33 bc	1.00 c	2	
9.26 b	1.63 s-v	2.26 q-s	1.22 bc	1.00 c	1.22 bc	4	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different by LSD test ($P \leq 0.05$).

قطر ساقه: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیش‌ترین قطر شاخساره در محیط‌کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA ثبت شد و کم‌ترین قطر شاخساره در محیط‌کشت MS با ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد (جدول ٤). نتایج نشان داد، نوع محیط‌کشت و ترکیبات هورمونی، بر قطر شاخساره‌های تولیدشده مؤثر می‌باشند. علی و همکاران (۵) نیز اثر محیط‌کشت گیاهان چوبی (WPM) و محیط کشت زیتون (OM) با غلظت‌های زآتین و BAP به تنهائی یا در ترکیب با یکدیگر، جهت پرآوری زیتون رقم 'Moraiolo' در شرایط درون‌شیشه‌ای بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که محیط‌کشت OM، نسبت به محیط‌کشت WPM در ایجاد شاخساره قوی مؤثرتر بود. شاخساره‌های تولید شده در هر دو محیط‌کشت نیز از نظر ریخت شناسی با هم متفاوت بودند.

www.SID.ir

Archive of SID

تعداد برگ در شاخساره: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که در محیط‌کشت مایع، محیط MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بیش‌ترین تعداد برگ و محیط MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA کم‌ترین تعداد برگ را داشتند (جدول ٤). چانونتاپیپات و همکاران (۱۲) در ریزازدیادی دورگه هلو- بادام بیش‌ترین تعداد برگ را در محیط‌کشت MS گزارش کردند. ایسکالان و همکاران (۲۳) اثر غلظت‌های مختلف BA به تنهایی و ترکیبی از IAA + BA برای تکثیر شاخساره بادام رقم ناون پاریل مورد بررسی قرار دادند. بیش‌ترین تعداد شاخساره از محیط‌کشت MS با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد ولی بیش‌ترین تعداد گره و تعداد برگ از محیط‌کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر قطر و تعداد برگ شاخساره.

Table 4. Mean comparison the effect of culture medium and growth regulators on shoot diameter and leaf number of GF677 explants.

تعداد برگ در شاخساره Leaf number per shoot			قطر شاخساره (میلی‌متر) Shoot diameter (mm)			تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth Regulators (mg / L)	
نوع محیط‌کشت Type of culture medium			نوع محیط‌کشت Type of culture medium			سایتوکینین (BA) Cytokinin (BA)	اکسین (IBA) Auxin (IBA)
WPM	MS	B5	WPM	MS	B5		
4.30 op	0.55 uv	9.44 d	1.20 f-m	1.10 g-m	2.03 cd	0.25	
2.77 s-u	5.33 k-m	5.22 lm	0.69 lmn	1.83 d-g	1.53 c-k	0.5	
5.44 j-m	0.33 v	7.44 f	1.43 c-l	0.30 n	1.43 c-l	1	0
5.19 lm	3.44 q-s	6.44 g-i	1.27 d-m	1.10 g-m	1.80 d-g	2	
8.41 e	5.77 i-l	2.88 s-u	1.83 d-g	1.66 c-k	1.10 g-m	4	
6.11 g-k	2.40 tu	3.99 p-q	1.37 d-l	1.06 h-n	1.63 c-k	0.25	
3.88 p-q	4.33 op	6.33 g-i	0.90 k-n	1.80 d-g	1.30 d-m	0.5	
2.77 s-u	3.44 q-s	6.44 g-i	0.54 mn	1.06 h-n	1.50 c-k	1	0.1
6.86 f-g	3.77 p-q	6.44 g-i	1.76 d-h	1.33 d-l	1.76 d-h	2	
5.43 j-m	2.99 r-u	7.22 f	1.40 d-l	1.33 d-l	1.36 d-l	4	
6.22 g-j	2.99 r-u	4.22 op	1.70 e- i	1.06 h-n	1.16 f-m	0.25	
4.26 op	3.66 p-r	5.88 h-l	1.20 f-m	1.00 i-n	1.66 c-k	0.5	
5.33 k-m	2.77 s-u	13.44 a	1.53 c-k	1.00 i-n	2.76 b	1	0.25
5.95 h-k	4.11 pq	2.55 tu	1.53 c-k	1.26 d-m	0.90 k-n	2	
6.33 g-i	5.77 i-l	7.33 f	2.00 c-e	2.20 c	1.90 d-f	4	
4.88 m-o	12.00 b	9.88 d	1.43 c-l	3.33 a	2.00 c-e	0.25	
5.38 k-m	4.32 op	6.10 g-k	1.50 c-k	1.40 d-l	1.60 c-k	0.5	
6.66 f-g	4.44 n-p	2.66 s-u	1.83 d-g	1.36 d-l	0.96 j-n	1	0.5
5.10 l-n	2.99 r-u	3.44 q-s	1.26 d-m	1.16 f-m	1.13 f-m	2	
10.44 c	2.55 tu	4.10 pq	1.86 d-f	1.23 e-m	1.26 d-m	4	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

Means having the same letter in trait are not significantly different by LSD test ($P \leq 0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID

طول برگ: نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد در محیط‌کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بیش‌ترین طول برگ به‌دست آمد و در محیط MS با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA کم‌ترین طول برگ حاصل شد (جدول ۵). نوع و مقدار بعضی از عناصر غذایی پرمصرف در محیط‌های‌کشت WPM، MS و B5 متفاوت است. عناصر کم‌مصرفی هم‌چون ید و کبالت و نوع ویتامین‌ها نیز بین این محیط‌ها متفاوت است این تفاوت‌ها در زرد شدن گیاهچه‌های مؤثر بوده است. به‌نظر می‌رسد پایه مورد مطالعه نیاز غذایی خاصی دارد، به‌طوری‌که به کمبود عناصر غذایی و نوع و مقدار آن‌ها حساس است. در شاخساره‌های رنگ‌پریده با توجه به گزارش تایز و زیگر (٤٠) از علائم کمبود کلسیم می‌باشد. محیط‌کشت OM در مقایسه با محیط‌کشت WPM دارای سطح بالاتری از فسفر در حالی‌که ید فقط در محیط‌کشت OM موجود است که اثر مثبتی بر رشد ساقه و برگ دارد (۲۵). نظامی آنلاق و همکاران (۳۰) گزارش کردند، پایه‌های GF677 در محیط‌کشت MS دارای بیش‌ترین طول برگ می‌باشند.

پهنای برگ: نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که محیط‌کشت B5 با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیش‌ترین پهنای برگ و ریزنمونه‌ها در محیط‌کشت MS، با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA کم‌ترین پهنای برگ را داشتند (جدول ۵). نتایج نشان داد، در کنار نوع محیط‌کشت، ترکیبات هورمونی نیز اثرات معنی‌داری بر روی توسعه برگ ریزنمونه‌ها می‌گذارند. به خوبی شناخته شده است که سایتوکینین موجب تقسیم سلولی و گسترش سلول در گیاه می‌شود (۳۵)، نظامی آنلاق و همکاران (۳۰) گزارش کردند، پایه‌های GF677 در محیط‌کشت MS دارای بیش‌ترین پهنای برگ می‌باشند. نصرتی (۳۱) محیط پایه MS را در مقایسه با سایر محیط‌ها مناسب‌ترین محیط به‌منظور توسعه برگی، گزارش نموده است.

ریشه‌زایی: برای ریشه‌زایی از محیط‌کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ BA حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار استفاده شد و شاخساره‌های حاصل از آزمایش اول جهت ریشه‌زایی به این محیط منتقل شدند. سپس درصد ریشه‌زایی، ٦ هفته بعد از کشت شمارش و ثبت شد. در این محیط‌کشت درصد ریشه‌زایی ۳۳ درصد بود. شریف‌مقدم و همکاران (۳۷) اثر غلظت‌های مختلف سایوکینین BA، BAP و TDZ در ترکیب با غلظت‌های مختلف اکسین IAA و IBA برای ریشه‌زایی شاخساره حاصل از ریزازدیادی پایه GF677 مورد بررسی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که بیش‌ترین تعداد ریشه و طول ریشه، در محیط‌کشت MS با ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر محیط و تنظیم‌کننده‌های رشد بر طول و پهنای برگ شاخساره GF677.

Table 5. Mean comparison the effect of culture medium and growth regulators on leaf length and leaf width of GF677 explants.

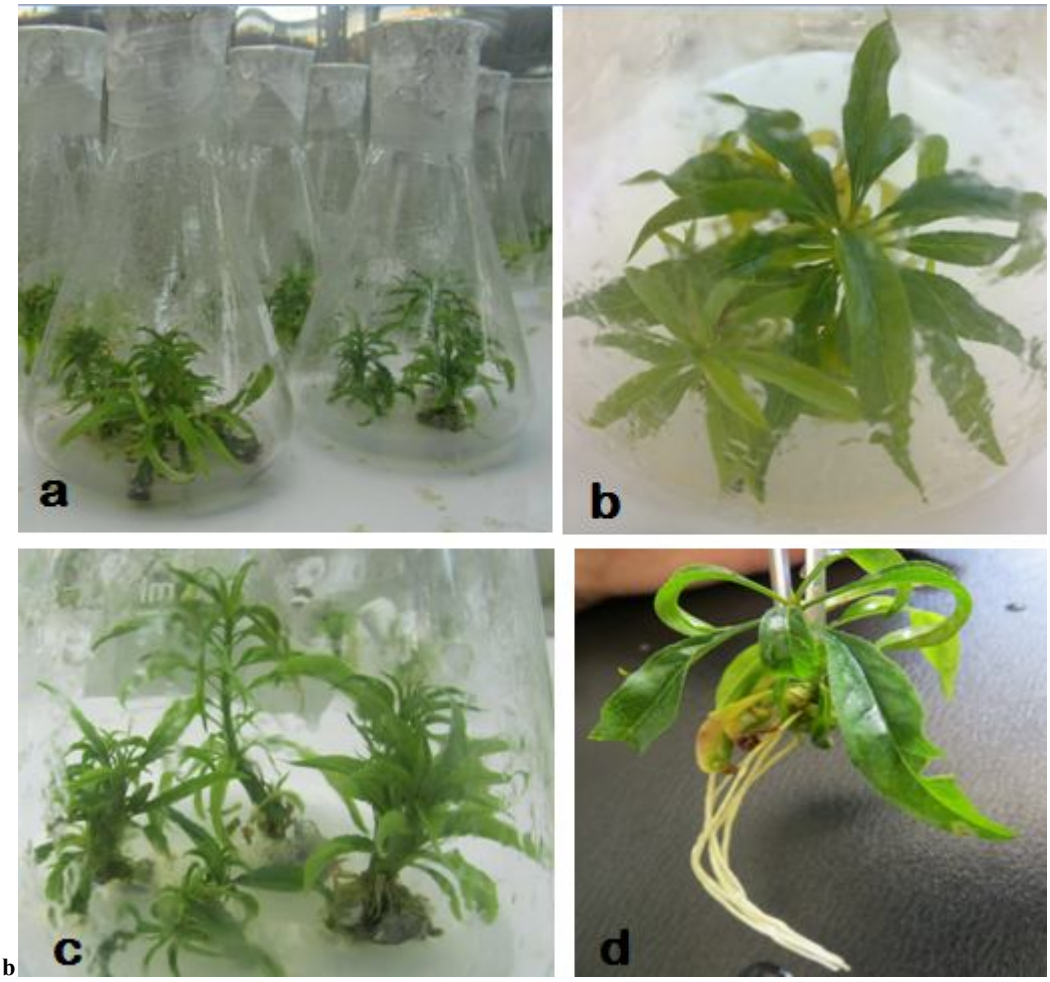
پهنای برگ (میلی‌متر) Leaf width (mm)			طول برگ (میلی‌متر) Leaf length (mm)			تنظیم‌کننده‌های رشد (میلی‌گرم در لیتر) Growth regulators (mg / L)	
نوع محیط‌کشت Type of culture medium			نوع محیط‌کشت Type of culture medium			سایتوکینین (BA) Cytokinin (BA)	اکسین (IBA) Auxin (IBA)
WPM	MS	B5	WPM	MS	B5		
4.33 efg	1.33 l	3.66 ghi	20.33 n-v	16.67 u-x	23.67 i-p	0.25	
4.00 fgh	4.66 ef	2.66 jk	15.00 w-z	27.67 d-j	26.33 f-l	0.5	
4.66 ef	5.66 c	7.33 a	24.67 g-n	27.33 e-k	29.00 b-h	1	0
3.66 ghi	6.66 b	4.33 efg	25.33 g-m	21.33 m-u	27.00 e-k	2	
5.00 de	3.33 hi	3.00 ij	23.33 i-q	10.33 z	18.00 s-w	4	
5.33 cd	5.00 de	4.16 fg	21.00 m-u	35.00 a	25.00 g-n	0.25	
3.66 ghi	3.00 ij	3.33 hi	15.33 w-z	21.00 m-u	26.67 e-l	0.5	
3.00 ij	5.66 c	3.00 ij	22.00 l-t	29.33 b-g	11.67 yz	1	0.1
4.33 efg	4.66 ef	4.00 fgh	23.67 i-p	28.00 d-i	24.33 h-o	2	
4.00 fgh	5.00 de	2.33 jk	15.33 w-z	22.67 k-s	15.67 v-z	4	
4.00 fgh	5.00 de	4.66 ef	20.67 m-u	19.67 o-w	29.00 b-h	0.25	
3.66 ghi	4.00 fgh	4.33 efg	16.67 u-y	30.33 a-f	28.67 c-h	0.5	
4.66 ef	3.66 ghi	2.33 jk	19.67 o-w	20.33 n-v	8.00 Z	1	0.25
3.66 ghi	3.66 ghi	4.66 ef	23.00 j-r	23.33 i-q	21.33 m-u	2	
3.00 ij	4.00 fgh	4.33 efg	19.33 p-w	27.00 e-k	18.33 r-w	4	
3.33 hi	7.00 ab	3.00 ij	17.33 t-w	33.67 ab	18.67 q-w	0.25	
3.33 hi	5.33 cd	3.66 ghi	17.00 u-x	31.33 a-e	19.00 p-w	0.5	
2.33 jk	3.33 hi	2.00 k	12.33 x-z	32.33 a-d	12.00 yz	1	0.5
2.33 jk	5.33 cd	5.66 c	20.33 n-v	33.33 abc	25.00 g-n	2	
3.33 hi	2.33 jk	3.00 ij	20.67 m-u	9.00 z	23.00 j-r	4	

میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارد.

Means followed by similar letters in each column are not significantly different by LSD test ($P \leq 0.05$).

www.SID.ir

Archive of SID



b

شکل ۱- تأثیر محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی باززایی و ریشه‌زایی پایه رویشی GF677.

Fig. 1. The effect of culture medium and growth regulators on regeneration and rooting of GF677.

a: تأثیر محیط‌کشت WPM مایع حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بر درصد باززایی ریزنمونه GF677.

a: Effect of WPM medium containing 1 mg/L BA on the percentage of regeneration of GF677.

b: تأثیر محیط‌کشت WPM مایع حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بر تعداد شاخساره ریزنمونه GF677.

b: Effect of WPM medium containing 1 mg/L BA on the number of shoot of GF677.

c: تأثیر محیط‌کشت B5 مایع حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بر تعداد برگ و طول شاخساره GF677.

c: Effect of B5 medium containing 1 mg / l BA and 0.25 mg / l IBA on shoot length and leaf number of GF677.

d: ریشه‌زایی GF677 در محیط‌کشت MS جامد همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA.

d: Rooting of GF677 in solid MS medium with 1 mg/L BA and 0.5 mg/L IBA.

انتقال گیاهچه‌های ریشه‌دارشده به محیط سازگاری: گیاهچه‌های ریشه‌دارشده پس از انتقال به محیط سازکاری، ۹۰ درصد آنها زنده ماندند و به‌صورت طبیعی رشد نمودند. دبنات (۱٤ و ۱۵) نیز گزارش نمود که جهت جلوگیری از بین رفتن ریزقلمه‌ها، هنگام انتقال از شرایط کشت درون‌شیشه‌ای باید آن‌ها را به‌تدریج با شرایط محیط سازگار کرد و نباید تغییر ناگهانی در رطوبت نسبی، درجه حرارت و یا تابش نور رخ دهد. بیسواس و همکاران (۱۱) نیز نتایج مشابهی را گزارش نمودند.

www.SID.ir

Archive of SID

نتیجه‌گیری

ازدیاد پایه GF677 از طریق قلمه به‌دلیل توانایی بسیار پایین در ریشه‌زایی، کار دشواری است. نتایج بیانگر پاسخ مثبت و مناسب پایه GF677 به کشت بافت داشت. مطابق نتایج، ریزازدیادی پایه GF677 در محیط‌های‌کشت مایع MS، B5 و WPM با غلظت‌های تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف نشان داد که گیاهچه‌های تولیدشده تحت‌تأثیر نوع محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد قرار گرفتند که به نوع صفت و غلظت تنظیم‌کننده رشد بستگی داشت به‌نحوی‌که تیمار محیط‌کشت WPM همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با صددرصد باززایی و ۲/٤٤ شاخساره در ریزنمونه، مناسب‌ترین محیط‌کشت مورد استفاده بود که به‌طور چشمگیری تعداد شاخه‌ها را افزایش داد ولی بیش‌ترین تعداد برگ (۱۳/٤٤ برگ) و طول شاخساره (۱۰/۷۷ سانتی‌متر) تأثیر محیط‌کشت B5 مایع حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA قرار گرفت. در محیط ریشه‌زایی نیز بهترین نتیجه (۳۳ درصد ریشه‌زایی) در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد.

منابع

1. Akba, F., Iskalan, Ç., Naml, S. and ErolAk, B. 2008. Effect of plant growth regulators on *in vitro* shoot multiplication of *Amygdalus communis* L. cv. Yaltsinki. Afr. J. Biotechnol. 8: 22. 6168-6174.
2. Akbarpour, E., Imani, A. and Ferdowskhah Yeganeh, S. 2017. Physiological and Morphological Responses of Almond Cultivars under In Vitro Drought Stress. J. Nuts. 8: 1. 61-72.
3. Afreen, F. 2007. Temporary immersion bioreactor. Plant Tiss. Cult. Eng. 6: 87-201.
4. Ainsley, P.J., Collins, G.G. and Sedgley, M. 2001. *In vitro* rooting of almond (*prunusdulcis* mill.). In Vitro Cell. Dev. Biol. 37: 778-785.
5. Ali, A., Ahamad, T., Abbasi, N.A., Hafez, I. and Ahmad, H.I. 2009. Effect of Different concentrations of auxin on *in vitro* rooting of olive cultivar Moraiolo. Pak. J. Not. 41: 3. 1223-1231.
6. Alvard, D., Cote, F. and Teisson, C. 1993. Comparison of methods of liquid medium culture for bananapropagation. Effects of temporary immersion of explants. Plant Cell Tiss. Org. 32: 55-60.
7. Amiri, M.E. 2002. Mass Propagation of a Unique Variety of Pear (*Pyruspyrifolia* Nak. Cv. Sebri) by shoot Tip Culture *in vitro*. Acta Hort. 587: 55-56.
8. Ammer, M. 1999. Performance of Hansen, GF655 and GF677 peach rootstocks for rooting with the use of IBA under greenhouse condition. M.Sc. Thesis, Univ. Arid Agri. Rawalpindi, Pakistan. 65p.
9. Ansar, A., Touqeer, A., Nadeem, A.A. and Eshfaq, A.H. 2009. Effect of different media and growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of olive cultivar 'Moraiolo'. Pak. J. Bot. 41: 783-795.
10. 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. Sci Hort. 106: 258-267.
11. Biswas, M., Islam, R. and Hossian, M. 2007. Somatic embryogenesis in strawberry (*Fragaria* sp.) Through callus culture. Plant Cell Tiss Org. 90: 40-45.
12. Channuntapipat, C., Sedgley, M. and Collins, G. 2003. Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and NePlus Ultra and the hybrid rootstocks Titan × Nemaguard. Sci Hort. 98: 473-484.
13. Cheong, E.J. and An, C. 2015. Effect of carbohydrates on in vitroshoot growth of various Prunus species. Korean J. Plant Res. 28: 357-362.

www.SID.ir

Archive of SID

14. Debnath, S.C. 2005. Strawberry sepal: another explant for thidiazuron-induced adventitious shoot regeneration. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 41: 671-676.
15. Debnath, S.C. 2006. Zeatin overcomes thidiazuron-induced inhibition of shoot elongation and promotes rooting in strawberry culture *in vitro*. J. Hort. Sci. Biotech. 81: 349-354.
16. Debergh, P.C. 1987. Effects of agar brand and concentration on the tissue culture medium. Physiol. Plant. 59: 2. 270-276.
17. Dobránszki, J. and Teixeira da Silva, J.A. 2010. Micropropagation of apple - A review. Biotechnol. Adv. 28: 462-488.
18. Durkovic, J. 2006. Rapid micropropagation of mature wild cherry. Biol Plantarum. 50: 733-736.
19. 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. Agron. Res. 3: 1. 3-8.
20. Godoy, S., Tapia, E., Seit, P., Andrade, D., Sánchez, E., Andrade, P., Almeida, A.M. and Prieto, H. 2017. Temporary immersion systems for the mass propagation of sweet cherry cultivars and cherry rootstocks: development of a micropropagation procedure and effect of culture conditions on plant quality. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant. 53: 494-504.
21. Hartmann, H.T., Kester, D.E., Davies, Jr.F.T. and Geneve, R.L. 2007. Plant Hormones. In: Plant Propagation: Principle and Practices. 7th edition, Prentice-Hall, New Delhi. Pp: 292-320.
22. Hassan, S.A.M. and Zayed, N.S. 2018. Factor Controlling Micropropagation of Fruit Trees: A Review. Sci. Int. 6: 1. 1-10.
23. Iskalan, Ç., Adıyaman, F., Naml, S., Tilkat, E. and Basaran, D. 2008. *In vitro* micropropagation of almond (*Amygdalus communis* L. cv. Nonpareil). Afr. J. Biotechnol. 7: 12. 1875-1880.
24. Kamali, K., Majidi, E. and Zarghami, R. 2006. Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). Agris. 56: 175-177.
25. Maalej, M., Chaari, A.R. and Drira, N. 2006. Contribution to the improvement of olive tree somatic embryogenesis by mineral and organic analysis of zygotic embryos. Euphytica. 151: 31-37.
26. Majidi, E. and Davodi, D. 2005. Microtuber production in potato by periodical bioreactor. J. Agron. Sci. 5: 4. 302-304.
27. McCown, B.H. 2000. Woody shrubs and trees. In: Plant Tissue Culture: Techniques and Experiments. (Ed.): R.H. Smith, 2nd ed. Academic Press, New York. Pp: 123-134.
28. Meneguzzi, A., Gonçalves, M.J., Camargo, S.S., Grimaldi, F., Weber, G.C. and Rufato, L. 2017. Micropropagation of the new apple rootstock 'G. 814'. Ciência Rural. 47: 06. 1-5.
29. Nazary Moghaddam, R. and Yadollahi, A. 2012. Micropropagation of GF 677 Rootstock. J. Agric. Sci. 4: 5. 131-138.
30. Nezami Alanagh, E., Garoosi, G.A., Haddad, R., Maleki, S., Landín, M. and Gallego, P.P. 2014. Design of tissue culture media for efficient Prunus rootstock micropropagation using artificial intelligence models. Plant Cell Tiss Org. 117: 3. 349-359.
31. Nosrati, S.Z. 2003. *In vitro* propagation of some pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. M.Sc. Thesis. The University of Tehran, Tehran, Iran.
32. Peyvandi, M., Noormohammadi, Z., Banihashemi, O., Farahani, F., Majid, A., Hosseini Mazinani, M. and Sheidai, M. 2010. Molecular Analysis of Genetic Stability in Long Term Micropropagated Shoots of *Olea europaea* L. (cv. Dezful). Asian J. Plant Sci. 8: 146-152.
33. 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. Sci Hort. 106: 258-267.
34. Pruski, K., Astatkie, T. and Nowak, J. 2005. Tissue culture propagation of Mongolian cherry (*Prunus froticosa*) and Nanking cherry (*P. tomentosa*). Plant Cell, Tiss. Org. 82: 207-211.

www.SID.ir

Archive of SID

35. Ruzic, D.J.V. and Vujovic T.I. 2008. The effect of cytokinin types and their concentration on *in vitro*, multiplication of sweet cherry cv. Hort. Sci. 35: 12-21.
36. Sandal, I., Bhattacharya, A. and Ahuja, P.S. 2001. An efficient liquid culturesystem for tea shoot proliferation. Plant Cell, Tiss. Org. 65: 75-80.
37. Sharifmoghaddam, N., Safarnejad, A., and Tabatabaei, S.M. 2011. The effect of plant growth regulators on callus induction and regeneration of GF677 rootstock. Int. J. Sci. Nat. 2: 4. 805-808.
38. Sepahvand, S., Ebadi, A., Kamali, K. and Ghaemmaghami, S.A. 2012. Effects of Myo-Inositol and Thiamine on Micropropagation of GF677 (Peach × Almond Hybrid). J. Agric. Sci. 4: 275-280.
39. Sutter, E.G. 1996. General laboratory requirements, media and sterilization methods. In: Trigiano, R.N., Gray, D.J. (Eds.) Plant tissue culture concepts and laboratory Exercises, CRC Press, New York, Pp: 11-25.
40. Taiz, L. and Zeiger, E. 2002. Mineral Nutrition. In: *Plant Physiology*. 2nd ed. Sinaver Associates Inc. Pub. Pp: 67-86.
41. Tatari Vernosafadarani, M. and Mousavi, S.A. 2013. Optimization of in vitro culture in tetra, nemaguard and GF677 clonal rootstocks. J. Crop Improv. 15: 3. 103-115.
42. Thorpe, T.A. 2006. History of plant tissue culture. In: *Plant Cell Culture Protocols*. (Eds.): B.M. Loyola-Vargas, F. Vazquez-Flota. 2nd edn. Totowa, NJ.: Humana Press Inc. 9: 32.
43. Teixeira da Silva, J.A., Gulyás, A., Magyar-Tábori, K., Wang, M., Wang, Q. and Dobránszki, J. 2019. In vitro tissue culture of apple and other Malus species: recent advances and applications. Planta. 249: 975.
44. Wiszniewska, A., Nowak, B., Kołton, A., Sitek, E., Grabski, K., Dziurka, M., Długosz-Grochowska, O., Dziurka, K. and Tukaj, Z. 2016. Rooting response of Prunus domesticaL. microshoots in the presence of phytoactive medium supplements. Plant Cell Tiss Org. 125: 163-176.
45. Zia ul hasan, S., Ahmad, T., Ahmad hafiz, I. and Hussain, A. 2010. Direct plant regeneration from leaves of prunus rootstock GF677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*). Pak. J. Bot. 42: 6. 3817-3830.

www.SID.ir

www.SID.ir