بررسی اثرهای BA و TDZ بر رشد جوانه و رویان زایی بدنی لپه‌های نابالغ بادام (*Prunus dulcis* L.) دیر گل رقم '۷ شاهرود'

اختر شکافنده* – **مهدی قاسمی**[۱]

تاریخ دریافت:۸۷/۷/۶

تاریخ پذیرش:۸۷/۱۱/۸

چکیده

در این پژوهش اثرغلظت‌های مختلف BA (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر) همراه با غلظت‌های صفر، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بر رشد جوانه و پرآوری شاخساره و اثر غلظت‌های مختلف تیدیازورون (TDZ) صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی گرم در لیتر در ترکیب با غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA روی رویان زایی بدنی در سه بخش مختلف لپه (نزدیک به محور رویانی، میانی و انتهایی) در محیط کشت MS مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیشترین رشد جوانه و پرآوری شاخساره در ۲ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر IBA (۳/۸۵ شاخساره در هر ریزنمونه) به دست آمد و افزایش BA سبب کاهش شاخساره شد. کار برد TDZ به عنوان یک سایتو کاینین قوی سبب انگیزش رویان بدنی در بخش نزدیک به محور رویانی لپه شد و بیشترین درصد رویان زایی (۷۰٪) در محیط کشت حاوی ۴ میلی گرم در لیتر TDZ به دست آمد. استفاده از IBA در ترکیب با TDZ، درصد رویان زایی را کاهش داد.

واژه‌های کلیدی: پرآوری شاخساره، لپه، رویان زائی بدنی

مقدمه

بادام اهلی با نام علمی *Prunus dulcis* Mill. از خانواده رزاسه[۲] است. مغز بادام از یک لایهٔ نازک به رنگ قهوه ای روشن تا تیره پوشیده شده و شامل دولپه بزرگ سفید، شفاف و روغن دار است که مصارف خوراکی ، صنعتی، دارویی و آرایشی فراوانی دارد (۱).

امروزه در کشور ما از ارقام بادام اصلاح شده و دیر گلی مانند ارقام '۱۰ شاهرود'، '۸ شاهرود'، '۷ شاهرود' و 'شکوفه تبریز' استفاده می شود. استفاده از بذر برای تکثیر باعث تولید نتاج هتروزیگوت و در نتیجه غیر یکنواختی در تولید محصول را بوجود می‌آورد. تکثیر به روش پیوند و کو پیوند زمان بر و پر هزینه است و استفاده از قلمه به علت عدم ریشه زایی و یا درصد بسیار پایین، موفقیت چندانی ندارد. لذا ارائه روشی که بتواند محدودیت‌های فعلی تکثیر را مرتفع نماید لازم و ضروری است. با توجه به توانایی تکنیک کشت بافت در تولید گیاهان عاری از بیماری، تولید خارج از فصل و در سطح وسیع و تولید گیاهانی مشابه گیاه والد، امروزه توجه زیادی به استفاده از این روش برای تکثیر گیاهان شده است.

۱- به ترتیب استادیار و دانشجوی سابق کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

*- نویسنده مسئول : Email: shekafan@shirazu.ac.ir

2- Rosaceae

Archive of SID

www.SID.ir

در کشت درون شیشه ای رقم‌های مختلف بادام، اثر ترکیبات مختلف تنظیم کننده‌های گیاهی بر رشد ریزنمونه‌های مختلف (نوک شاخسار، برگ و لپه) توسط تعدادی از پژوهشگران بررسی شده است. به عنوان مثال نینگ و همکاران در سال ۲۰۰۴ افزایش سریع ریزنمونه‌های ساقه در رقم 'Hansen' را بررسی وگزارش کردند که بیشترین پرآوری شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید (IAA) بدست آمد (۱۳).

تباکنیک و کستر در سال ۱۹۷۷ در پژوهشی روی رقم 'Nonpariel' دریافتند که در مرحله استقرار سیتوکینین برای بقاء و رشد ریزنمونه‌ها ضروری است. BA به میزان ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر سبب طویل شدن شاخساره و به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر سبب پرآوری شاخساره جانبی به تعداد ۵ تا ۱۰ شاخساره در هر ریزنمونه شد (۱۷).

آینسلی و همکاران در سال ۲۰۰۰ اثر تیدیازورون (TDZ) و ایندول بوتریک اسید (IBA) را بر باززایی شاخسارهٔ نابجا از برگ‌های بالغ بادام در ارقام 'Ne Plus Ultera' و 'Nonpareil' مورد بررسی قرار دادند. آنها بیشترین باززایی (۴۴/۴٪) را برای 'Ne Plus Ultera' با محیط کشت حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آوردند (۳). آنها همچنین باززایی شاخساره‌های نابجا را از لپه‌های نابالغ چهار رقم بادام مورد بررسی قرار دادند. بیشترین باززایی شاخساره (۱۰۰٪) در رقم 'Carmel' در محیط کشت MS با ۱۰ میکرومولار TDZ به مدت ۸ هفته و سپس به مدت ۴ هفته در محیط کشت بدون تنظیم کننده رشد بدست آمد (۴).

چانونتاپیپات و همکاران در سال ۲۰۰۳ ریزافزایی دو رقم بادام 'Nonpareil' و 'Ne Plus Ultera' با استفاده از ریز نمونه نوک شاخساره مورد بررسی قرار داده و گزارش کردند هر دو رقم عکس العمل‌های متفاوتی داشند به طوری که رقم 'Nonpareil' در محیط کشت AP حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۶۷ میلی گرم در لیتر BA و رقم 'Ne plus Ultera' در محیط کشت MS حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱/۱۳ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین شاخساره را تولید کردند (۷).

کمالی و همکاران در سال ۱۳۷۴ در تعیین مناسبترین محیط کشت برای ریزازدیادی پایهٔ 'GF677'، بهترین شاخه‌زایی را در محیط کشت Knops تغییر یافته با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به دست آوردند. بهترین تیمار ریشه‌زایی، محیط کشت لینسمایر و اسکوگ (LS) با افزایش تیامین به غلظت ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر و ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر IBA در ۷ روز تاریکی شناخته شد (۲).

راندمان بالایی از باززائی در ریز نمونه‌های لپه و رویان نابالغ در دیگر گونه‌های مختلف جنس *prunus* مانند زردآلو(۶)، گیلاس زینتی (۸) هلو (۱۵) گزارش شده است. مهرا ومهرا (۱۱) اثر مواد غذائی و تنظیم کننده‌های رشد را بر لپه‌های بادام بررسی و در صد پایینی از باززایی را گزارش کردند. تسوکاماتو و همکاران (۱۹) روش موفقیت آمیزی برای جنین زایی بدنی در زردآلو ژاپنی رقم 'Nonko' از کشت لپه‌های نابالغ شرح داده و گزارش دادند بالاترین میزان جنین زایی زمانی ایجاد شد که لپه‌های نابالغ را ۸۰ روز پس از گلدهی در محیط کشت WPM با ۳٪ سوربیتول ۱ میکرومولار BA و ۱ میکرو مولار 2,4-D قرار داده شدند.

تکنیک‌های نوین مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی امکانات بسیار خوبی را برای تولید ژنوتیپ‌های جدید با خصوصیات بسیار مناسب را در کوتاه مدت فراهم کرده است که در اصل بر مبنای تکنیک‌های کشت بافت می‌باشد. از آنجا که بادام به شرایط کشت بافت سر سخت بوده و فرایند انتقال ژن را با مشکل روبرو می سازد ارائه یک روش تکثیر در شرایط این ویترو با هدف ریزازدیادی و یا انتقال ژن‌های مفید لازم و ضروری است. لذا این پژوهش با هدف

Archive of SID

www.SID.ir

بررسی اثر سطوح مختلف سیتو کینین (BA و TDZ) و IBA بر شاخه زایی جوانه ساقه و جنیین زایی ریز نمونه لپه انجام شد (۱ و ۴).

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: برای کشت جوانه از شاخساره‌های تازه روئیده نهال پیوندی سه ساله (رقم ۷شاهرود) پیوند شده روی پایه بادام تلخ) استفاده شد. قطعه‌های تک گره به طول ۱/۵ تا ۲/۵ سانتی‌متر جدا و به عنوان ریزنمونه بکار برده شد. برای کشت لپه‌ها از میوه‌های بادام (۱۲۰ تا ۱۳۰روز پس از باز شدن گلها) جمع آوری شده از کلکسیون بهرام در نیریز استفاده شد.

ضدعفونی کردن ریزنمونه‌ها: برای ضد عفونی سطحی، ریزنمونه‌های جوانه را ابتدا با مادهٔ شوینده شسته و سپس به مدت ۱ ساعت زیر آب جاری قرار دادیم و در ادامه به مدت ۳ دقیقه در خلا با ۲۰۰ میلی گرم در لیتر کلرید جیوه تیمار شدند. و سپس در زیر هود استریل به مدت ۲ دقیقه در الکل ۷۰٪ و پس از آن ۱۰ دقیقه در هیپوکلریت سدیم ۱۰٪ با ۰/۵٪ ریکا (یک ماده شوینده تجاری) قرار داده و در نهایت سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند.

برای ضد عفونی کردن لپه‌ها، ابتدا آن‌ها را از بذر خارج کرده و به مدت ۱۲ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد درون آب مقطر خیسانده و سپس با الکل ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۲۵ دقیقه ضد عفونی سطحی شدند. پس از آن ۳ مرتبه با آب مقطر استریل آبشویی شده و در زیر هود استریل، پوشش لپه‌ها برداشته و دو لپه از یکدیگر جدا شدند. محورهای رویانی و بافت‌های اطراف آنها حذف و برای آزمودن توانایی باززایی بخش‌های مختلف، لپه‌ها به سه بخش نوک[1] (نزدیک به محور رویانی)، میانی[2] و انتهایی[3] (دور از محور رویانی) با اندازه ۰/۵ × ۰/۵ سانتیمتر تقسیم شدند.

تنظیم کننده‌های رشد: برای بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر جوانه (پرآوری و طول شا خساره) از BA با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵، ۲، ۲/۵ و ۳ میلی گرم در لیتر و IBA با غلظت‌های صفر، ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی گرم در لیتر و ترکیبی از آنها در محیط کشت MS استفاده شد. پس از ۵ تا ۶ هفته تعداد شاخساره در هر ریزنمونه و طول شاخساره اندازه گیری شد.

به منظور بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد برریزنمونه‌های لپه، محیط کشت پایهٔ موراشیگی و اسکوگ (۱۲) با غلظت‌های صفر، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی گرم در لیتر تیدیازورون (TDZ) در ترکیب با غلظت‌های صفر و ۰/۵ میلی گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید (IBA) مورد استفاده قرار گرفت.

محیط کشت شامل ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۸ گرم درلیتر آگار و pH برابر ۵/۷ بود. ابتدا ریز نمونه‌ها به مدت ۷ روز در تاریکی نگهداری شده و سپس به شرایط با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و دمای ۲±۲۵°C منتقل شدند. ۴ هفته بعد لپه‌ها به محیط کشت تازه ای با همان ترکیب تنظیم کننده‌های رشد وا کشت و ۸ هفته بعد، لپه‌ها به محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد انتقال یافتند و ۵ هفته بعد ریزنمونه‌هایی که تولید رویان کرده بودند شمارش شدند.

تجزیه آماری

آزمایش‌ها در قالب طرح کاملا تصادفی با ۱۰ تکرار و ۱ تا ۴ ریزنمونه در هر تکرار انجام شد. تجزیه داده‌ها توسط نرم افزار آماری SPSS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه ای جدید دانکن در سطح ۵٪ صورت گرفت.

1- Proximal

2- Median

3- Distal

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج و بحث

تاثیر تنظیم کننده‌های رشد بر میزان پرآوری شاخساره

نتایج مربوط به اثر تنظیم کننده‌های رشد BA و IBA بر پرآوری شاخساره ریزنمونه جوانه‌های رقم ۷۰ شاهرود در جدول ۱ آمده است. در محیط کشت شاهد (بدون تنظیم کننده‌های رشد) هیچ گونه رشدی دیده نشد و همچنین محیط‌های کشت حاوی IBA به تنهایی (۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) هیچ اثری روی شاخساره زایی نداشته‌اند. با افزودن BA به محیط کشت همراه با ۰/۰۱ یا ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، قطعات گره شاخساره تولید کردند و بهترین پرآوری شاخساره (۳/۸۵ شاخساره در هر ریزنمونه) در ۲ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد (شکل ۱)، که با نتایج بدست آمده توسط دیگر پژوهشگران روی رقم‌های دیگر بادام همسوئی دارد (۲، ۷، ۱۳، ۱۷). با افزایش BA از این سطح تعداد شاخساره در هر ریزنمونه کاهش یافت و به ۱/۰۴ شاخساره در هر ریزنمونه در ۳ میلی‌گرم در لیتر BA رسید.

بیشترین میانگین طول شاخساره ۴/۵۲ و ۴/۶۹ میلی متر به ترتیب در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA و در ترکیب با ۰/۰۱ یا ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمد (جدول ۱). با افزایش غلظت BA از ۱ میلی‌گرم به ۳ میلی‌گرم در لیتر، طول شاخساره به طور معنی داری کاهش یافت و به کمترین میزان یعنی ۰/۹۶ میلی متر رسید. غلظت‌های بالای BA (۲/۵ تا ۳ میلی گرم در لیتر) سبب کاهش شاخساره و بویژه کاهش طول شاخساره شد. کاهش رشد شاخساره با پریدگی رنگ برگها همراه بود که می‌تواند به دلیل رقابت بین شاخساره‌ها و اثر نا مطلوب غلظت بالای BA و به هم خوردن تعادل هورمونی داخل ریزنمونه‌ها باشد (۱۶).

جدول (۱) تاثیر تنظیم کننده‌های رشد بر پرآوری شاخساره در محیط کشت MS.

تنظیم کننده‌های رشد (میلی گرم در لیتر)		تعداد شاخساره در هر ریزنمونه	میانگین طول شاخساره (میلی متر)
ایندول بوتریک اسید	بنزیل آدنین		
۰	۰	۰/۰۰c†	۰/۰۰c†
۰/۰۱	۰	۰/۰۰c	۰/۰۰c
	۰/۵	۰/۴۶d	۲/۵۲abc
	۱	۱/۲۴bc	۴/۵۲a
	۱/۵	۳/۶۳a	۳/۸۵ab
	۲	۳/۸۵a	۳/۷۰ab
	۲/۵	۲/۸۱ab	۲/۴۵abc
	۳	۱/۴۱bc	۱/۲۰bc
۰/۱	۰	۰/۰۰c	۰/۰۰c
	۰/۵	۰/۵۴d	۳/۸۶ab
	۱	۲/۷۰abc	۴/۶۹a
	۱/۵	۳/۵۵a	۳/۷۱ab
	۲	۲/۸۰ab	۲/۲۲abc
	۲/۵	۲/۶۲abc	۱/۸۰abc
	۳	۱/۰۴cd	۰/۹۶bc

† در هرستون میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن اختلاف معنی داری ندارند.

Archive of SID

www.SID.ir

شکل (۱) پرآوری شاخساره‌ها روی محیط کشت MS با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA

تاثیر تنظیم کننده‌های رشد بر رویان زایی بدنی (somatic) لپه‌ها: سه هفته پس از کشت لپه‌ها، قسمت‌های متورم سفید رنگی در سطح زیرین همه ریز نمونه‌ها مشاهده شد. ریزنمونه‌های نزدیک به محور جنینی درتیمارهای شاهد و ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA پینه کمی تولید کردند (شکل۲، الف و ب). رویان‌های بدنی پس از چهار هفته روی سطح بالایی ریز نمونه‌ها ظاهر شدند. براساس نتایج درصد تشکیل رویان‌های بدنی، ریزنمونه نزدیک به محور جنینی (P) در صد جنین زایی بیشتری نسبت به ریزنمونه‌ها ی قسمت‌های میانی(M) و دور از محور جنینی(D) داشت به طوری که ریزنمونه دور از محور جنینی رویان بدنی تولید نکرد. بیشترین درصد رویان زایی بدنی به میزان ۷۰ درصد با ۴ میلی گرم در لیتر TDZ در نزدیک به محور جنینی (P) بدست آمد (جدول۲). هر چند درصد رویان زایی در ترکیب تنظیم کننده‌های رشد IBA و TDZ در محیط‌های رشد کمتر بود، ولی رویان‌های بدنی در آنها زودتر از محیط‌های کشتی که فقط حاوی TDZ بود تشکیل شد (شکل۲ ج، د). افزایش تدریجی غلظت TDZ از ۱ به ۴ میلی گرم در لیتر، سبب افزایش درصد تشکیل رویان‌های بدنی شد. استفاده از IBA در ترکیب با TDZ، درصد رویان زایی را کاهش داد.

رویان‌های بدنی به طور مستقیم و بدون ایجاد پینه از انتهای نزدیک به محور جنینی بدست آمد که مشابه رویان زایی از بادام هندی، سیب، سویا و آلبالو (۵، ۱۰، ۱۴ و ۱۸) می باشد. جدا کردن انتهای نزدیک به محور جنینی در لپه‌ها ممکن است سبب تغییر غلظت تنظیم کننده‌های رشد درونی لپه‌ها شده و آن را به سمت رویان زایی پیش برده باشد (۱۴). اگر چه رویان زایی از لپه‌های نابالغ بادام صورت گرفت ولی رشد و نمو بعدی در آنها متوقف شد. شاید غلظت TDZ در زیر کشت دوم می بایستی کاهش یابد، چون در کشت اول رویان زایی صورت گرفته بود و برای رشد بعدی نیاز به غلظت کمتری از تنظیم کننده رشد TDZ بوده است (۹).

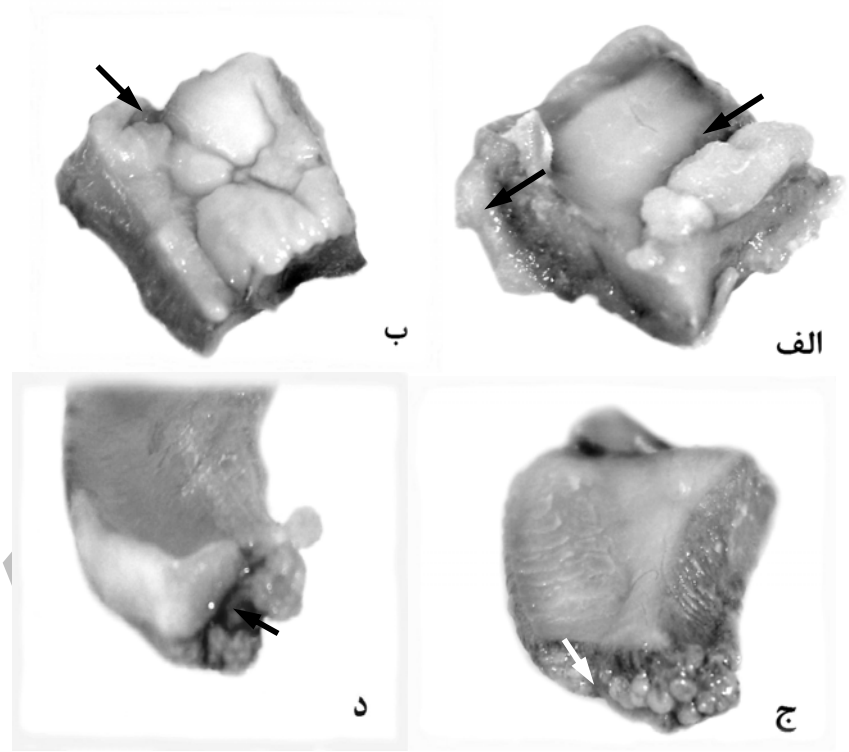
Archive of SID

www.SID.ir

جدول (۲) درصد تشکیل رویان‌هانی بدنی درقسمت‌های مختلف لپه‌های بادام

تیدیازورون	ایندول بوتریک اسید	قسمت‌های مختلف لپه		
($mg\ l^{-1}$)	($mg\ l^{-1}$)	P	M	D
۰	۰	۰	۰	
۰	۰/۵	۰	۰	
۱	۰	۲۰d†	۰	
۲	۰	۶۰ab	۱۰b	
۳	۰	۵۰b	۱۰b	
۴	۰	۷۰a	۲۰a	
۱	۰/۵	۲۰d	۰	
۲	۰/۵	۲۰d	۰	
۳	۰/۵	۲۰d	۰	
۴	۰/۵	۳۰c	۱۰b	

† در هرستون میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای جدید دانکن اختلاف معنی داری ندارند.



شکل (۲) الف) انگیزش پینه در محیط با ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA. ب) قسمت‌های متورم سفید در سطح زیرین لپه‌ها. ج و د) تشکیل رویان‌های بدنی.

www.SID.ir

تیدیازوزن با اثر قوی درکشت درون شیشه ای بسیاری از درختان چوبی استفاده شده است (۹). TDZ بدون ترکیب با IBA، رویان زایی را تحریک کرد که نتایجی مشابه آن گزارش شده است (۴). همچنین TDZ در دیگر گونه‌های در تحریک باززایی از بافت لپه‌ها مؤثر بوده است (۶ و ۱۰). در ترکیب TDZ با IBA رویان‌ها زودتر ظاهر شدند. ممکن است که وجود اکسین به تمایزیابی سلول‌ها سرعت داده باشد. در غلظت‌های بالای TDZ رویان زایی بیشتری ایجاد می شود، ولی در مراحل بعدی، شمار زیاد رویان‌ها مانع رشد و نمو شاخساره از رویان‌ها می شود(۴). بنابراین با توجه به نتایج بدست آمده کاهش یا حذف TDZ را در زیر کشت‌ها جهت سبز شدن رویان‌ها پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱. تهرانی فر، ع. و م. کافی. ۱۳۷۷. پرورش بادام. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. . ۳۱ ص.

۲. کمالی، ک.، ا. مجیدی و ر. ضرغامی. ۱۳۷۴. تعیین مناسبترین محیط کشت و شرایط رشد، جهت ریزازدیادی پایه‌های رویشی 'GF677'. پایان نامه کارشناسی ارشد باغبانی. دانشگاه تربیت مدرس. ۴۰ ص.

3. Ainsley, P.J., G. Collins and M. Sedgley. 2000. Adventitious shoot regeneration from leaf explant of almond (*Prunus dulcis* Mill.). *In Vitro* Cell Dev. Biol. Plant. 36:470-474.
4. Ainsley, P.J., F.A. Hammerschlag, T. Bertozzi, G.G. Collins and M. Sedgley. 2001. Regeneration of almond from immature seed cotyledons. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 67:221-22.
5. Ananthakrishnan G., R. Ravikumar, S. Girija and A. Ganapathi. 2002. *In vitro* adventitious shoot formation from cotyledon explant of cashew (*Anacardium occidentale* L.). Sci. Hort. 93: 343-355.
6. Goffreda, J.C., A.l. Scopel and J.A. Fiola. 1995. Indole butyric acid induces regeneration of phenotypically normal apricot (*Prunus armenica* L.) plants from immature embryos. Plant Growth Reg. 17: 41-46.
7. Channunapipat, C., M. Sedgley and G. Collis. 2003. Micropropagation of almond cultivars 'Nonpareil' and 'Neplus Ultra' and the hybrid rootstock, 'Titan × Nemagurd'. Sci. Hort. 98:473-484.
8. Hokanson, E and M.R. Pooler. 2000. Regeneration of ornamental cherry (*prunus)* taxa from mature stored seed. HortScience. 35:745-748.
9. Hutteman, C.A and J.E. Preece. 1993. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 33: 105-119.
10. Mante, S., R. Scorza and J. Cordts. 1989. A simple, rapid protocol for adventitious shoot development from mature cotyledons of *Glycine max* cv. Bragg. In vitro. 25: 385-388.
11. Mehra, A. and P.N. Mehra. 1974. Organogenesis and plantlet formation *in vitro* in almond. Bot. Gaz. 135:61-73.
12. Murashige, T. and F.A. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473-497.
13. Ning, Y., L. Sheng, W. Xiuchun and C. Ziyi. 2004. Rapid propagation of almond's rootstock. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica. 24:324-328.
14. Rubos, A.C., Pryke, S.A. 1984. Morphogenesis in embryonic tissue culture of apple. J. Hortic. Sci. 59: 469-475.
15. Schneider K.E., D. Speranzini and A. R. Biggs. 1992. Ontogeny of shoot regeneration on excised immature peach embryos. Can. J. Plant. Sci. 72:497-506.
16. Shekafandeh, A. and M. Khush-Khui. 2008. Effects of bud position and culture medium on shoot proliferation from nodal culture of two guava cultivars. Asian J. Plant Sci. 7:177-182.
17. Tabachnik, L. and D.E. Kester. 1977. Shoot culture for almond and almond-peach hybrid clones *in vitro*. J. Hort. Sci. 12:545-547.
18. Tang, H., Z. Ren and G. Krczal. 2000. Somatic embryogenesis and organogenesis from immature embryo cotyledons of three sour cherry cultivars (*Prunus cerasus* L.). Sci. Hort. 83: 109-126.
19. Tsukamoto, T., M. Gao, K. Negoro, H. Hanada, R. Tao, M. Kawabe, and K.Yonemori, 2007. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature cotyledons of *prunus mume* 'Nanko'. Acta Hort. 738:697.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of BA and TDZ on bud growth and immature cotyledons somatic embrygenesis of late flowering almond (*Prunus dulcis* L.) '7-Sharood' cultivar

A. Shekafandeh[*] – M. Ghasemi [1]

Abstract

In this research, the effects of BA with different concentrations (0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5 and 3 mg/l) in combination with IBA (0, 0.01 and 0.1 mg/l) on bud growth and shoot proliferation and TDZ with different concentrations (0, 1, 2, 3 and 4 mg/l) in combination with 0 and 0.5 mg/l IBA on somatic embryogenesis from different parts of immature cotyledons (proximal, median and Distal) were investigated. The results showed that the highest rate of bud growth and shoot proliferation were obtained in 2 mg/l BA and 0.01 mg/l IBA (3.85 shoots per explant). TDZ as a potent cytokinin caused initiation of somatic embryogenesis in proximal and median parts of cotyledons. The highest percentage of embryogenesis occurred in proximal part with 4 mg/l TDZ (70%) and using IBA plus TDZ decreased the percentage of embryogenesis.

Key words: Cotyledons ,Shoot proliferation, Somatic embryogenesis

Archive of SID

*- Corresponding author Email: shekafan@shirazu.ac.ir
1 - Contribution from College of Agriculture, Shiraz University

www.SID.ir