Archive of SID

در
منابع طبیعی شماره ۷۹، تابستان ۱۳۸۷
پژوهش و سازندگی

# تکثیر درون شیشه‌ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب

• **ابراهیم گنجی مقدم**
عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
• **احمد رضا بلندی**
عضو هیأت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
• **صدیقه آناهید**
کارشناس علوم گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی
تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۸۶ تاریخ پذیرش: شهریورماه ۱۳۸۶
Email: eganji @ hotmail. com

## چکیده

محلب(*Prunus mahaleb* L.) بـه طور معمول در ایران به عنوان پایه برای گیلاس و آلبالو اسـتفاده می‌شـود. در این تحقیق تکثیر درون شیشـه‌ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شـده این گیاه برای تعیین مناسـب‌ترین نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشـد و نیز بهترین روش ضدعفونی نمونه‌های گیاهی برای شـاخه زایی و ریشه زایی مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالـب طـرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و ۲۰ نمونه در هر تکرار انجام شـد. نمونه‌های گیاهی در اواخر زمسـتان از پایه‌های مادری جدا گردیدند. ضدعفونی نمونه‌ها در ابتدا با اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و سـپس با غلظت‌های ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۳ درصد کلرید جیوه به مدت ۲ یا ۴ دقیقه انجام گرفت. نتایج نشان داد که برای حذف آلودگی‌های سطحی بهترین تیمار استفاده از کلرور جیوه ۰/۲٪ به مدت ۲ دقیقه می‌باشد. نمونه‌های استریل شده جهت استقرار روی محیط کشت MS جامد قرار گرفتند و پس از آن جهت پرآوری شـاخه به محیط مشـابه با ترکیبات هورمونی متفاوت منتقل گردیدند. مرحله اسـتقرار بین ۴۰ تا ۶۰ روز بر حسب ژنوتیپ متفاوت بود. پس از سـه بار واکشـت با فواصل ۲۱ روز، بهترین شاخه زایی در محیط حاوی ۱ میلی گرم اسید جیبرلیک و ۱ میلی گرم بنزیل آدنین بدست آمد. بهترین غلظت هورمونی برای ریشه دار کردن شاخه‌ها اسید ایندول بوتریک به میزان ۰/۸ میلی گرم در لیتر بود. نتایج همچنین نشان داد که درصد ریشه زایی بر حسب ژنوتیپ متفاوت می‌باشد، به گونه‌ای که ژنوتیپ‌های شماره ۲۴۷ و ۱۸۷ با ۴۳/۱۷ و ۱/۵ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ریشه زایی را نشان دادند.

کلمات کلیدی: محلب، پایه، پاکوتاه، تکثیر درون شیشه ای، گیلاس

www.SID.ir

Archive of SID



Pajouhesh & Sazandegi No 79 pp: 54-61

**Micropropagation of four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes**

*By: E. Cangi Moghadam, Member of Scientific Board of Razavi Khoroson Agricultural and Natural Resources Research Center.*
*A.R.Bolandi, Member of Scientific Board of Razavi Khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center*
*S.Anahid, Plant Physiology Lab Expert of Razavi Khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center.*

*Prunus mahaleb* L. is used as a principal rootstocks for sweet and sour cherries in Iran. This study was conducted for optimization of micropropagation in four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. The influences of type and concentration of plant growth regulators on bud explants of mahaleb were studied. The statistical design was factorial adopted completely randomized design with 5 replicate. Explants were taken in end of Winter. For disinfection, they were dipped in 70% ethanol for 30 s followed by immersion in 0.1, 0.2 or 0.3% of mercuric chloride for 2 or 4 minutes. Application of 0.2% mercuric chloride solution for 2 minute was the most effective way for surface sterilization of the explants. Satisfactory stabilization of aseptic culture was achieved in 40-60 days. After three subcultures of each 21 days, on different proliferating media. The highest rooting percentage was obtained with MS supplemented with $1mgl^{-1}$ BAP and $1mgl^{-1}$ GA3 during proliferation. Proliferation was greatly influenced by genotypes. The best results were obtained in MS supplemented with $0.8mgl^{-1}$ IBA. The rooting percentage of four selected dwarf mahaleb ranged from 1.5 to 43.2%, depending on genotype and IBA concentration in the rooting media.

**Keywords:** Mahaleb (*Prunus mahaleb* L.), Dwarf rootstock, Miropropagation, Sweet cherry

## مقدمه

بـا توجه به نقش پایه در میزان رشـد رویشـی، زودرسـی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر بیماری ها، انتخاب پایه مناسب نقش بسزایی در برنامـه مدیریت باغ خواهد داشـت. مشـکلی که در حال حاضـر در باغهای گیلاس کشـور مشاهده می‌شود، رشد بیش از حد درختان روی پایه‌های موجود که عمدتاً پایه بذری آلبالو تلخ است، می‌باشد. در ارتباط با شناسـایی و انتخاب پایه‌های پاکوتاه مناسب درختان گیلاس در کشور تحقیقات چندانی صورت نگرفته اسـت. بررسـی تحقیقات انجام شده در سـایر نقاط دنیا نشان می‌دهد که پایه‌های اولیه مورد استفاده در گیلاس عمدتاً از سلکسـیون نهال‌های بذری توده‌های محلب، آلبالو شـیرین و گیلاس بدست آمده اند(۳۵).

با توجه به موارد فوق پژوهشـی تحت عنوان جمع آوری، شناسـایی و انتخـاب پایه‌های پاکوتاه گیلاس در مرکز تحقیقات کشـاورزی و منابع طبیعی خراسـان رضوی انجام و بر اساس خصوصیات مورفولوژیک بیش از ۲۷۹ ژنوتیپ پاکوتاه از توده بذور جمع آوری شـده، شناسایی گردید. معهذا مشـکل تکثیر رویشـی این ژنوتیپ‌ها به عنـوان یکی از مهم‌ترین موانع استفاده از این پایه‌ها در اصلاح باغهای گیلاس می‌باشد.

در خصوص تکثیر درون شیشه‌ای پایه‌های گیلاس در کشور می‌توان به پژوهش‌های انجام شـده توسـط ایزدپنـاه (۱) جهت ازدیـاد گیلاس وحشـی از طریق کشـت درون شیشه‌ای و بررسـی تکثیر پایه‌های کلت و F ۱۲/۱ از طریق کشـت بافت توسـط گودرزی(۲) اشـاره نمـود. نتایج تحقیق ایزد پناه نشـان داده اسـت که WPM(۲۲) بهترین محیط کشت بـرای تکثیر و بعد از آن به ترتیب DKW(۱۳) و MS(۲۴) می‌باشـد. در سایرکشـورها، تحقیقاتـی در ارتباط با تکثیر درون شیشـه‌ای پایه‌های گیـلاس انجـام گرفته که از جملـه می‌توان به پژوهش‌های انجام شـده توسـط محققین(۳۵،۲۵،۲۱،۱۶،۱۵،۳) اشاره کرد. Dardi (۱۲) از یازده اکوتیپ محلب به عنوان پایه برای دو رقم گیلاس با هدف بررسـی امکان تکثیر درون شیشـه‌ای استفاده نموده‌اند. در این تحقیق که از جوانه‌های انتهایی به عنوان ریزنمونه اسـتفاده شده است، میزان پرآوری در محیط حاوی ماکروالمنت‌های محیـط SH(۳۶)، میکروالمنت‌های محیط MS، ویتامین‌هـای محیط CH(۱۱)، ۰/۳ تا ۰/۸ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلـی گرم در لیتـر NAA، برابر ۳/۴ بوده اسـت. با این وجـود میزان پرآوری تا حد زیادی به اکوتیپ و غلظت IBA بسـتگی داشت، بطوریکه میزان پرآوری در یازده اکوتیپ محلب روی محیط کشـت مشابه از ۱/۵ تا ۴/۵ متغیر بوده اسـت. این مطالعه همچنین نشان داد که درصد ریشه زایـی بین ۸ اکوتیـپ از صفر تا ۸۸ درصـد متغیر بود. در بررسـی دیگر Zilkah(۳۷) سـه کلون حاصـل از تلاقی بین گونه‌ای مـازارد در محلب را از طریق کشـت درون شیشـه‌ای تکثیر نموده‌اند. نتایج آن‌ها نشان داد که بهترین محیط کشـت مرحله استقرار، محیط Boxus (۵) برای کلون M×M۲ و M×M۶۰ و بهتریـن محیـط پـرآوری شـاخه، محیط Parfitt و Almehdi (۲۷) بوده اسـت. نتایج همچنین نشان داد که ریز قلمه‌های ریشه دار شده مرحله سازگاری را با موفقیت سپری نموده و در گلخانه و مزرعه به خوبی رشد نموده‌اند.

Matt (۲۳) باززایـی شـاخه های نابجا از برگ‌هـا و برای اولین بار از میانگره‌های پنج رقم تجاری گیلاس را مطالعه کردند. در این بررسـی اثر محیط های پایه، ترکیبات و غلظت هورمون های گیاهی، بازدارنده‌های اتیلنی نظیر دی سـولفات نقره را مورد بررسی قرار دادند. نتایج نشان داد که محیط های DKW/WPM به نسـبت ۱:۱ و محیـط QL (۳۲) اندام



www.SID.ir

Archive of SID



زایی را به میزان بیشتری نسبت به محیط های QL/WPM به نسبت ۱:۱، DKW، MS، CP(۸ ) و WPM تحریک نمودند. بهترین باززایی با تیدیازرون(TDZ) در ترکیب با اسید ایندول بوتریک بدست آمد. در این بررسی افزودن دی سولفات نقره میزان باززایی را کاهش داد. نتایج همچنین نشان داد که میزان شاخه زایی ریزنمونه های تهیه شده از برگ و میانگره به ترتیب ۱۱ و ۵۰ درصد بود. Dorkovic (۱۴) در بررسی تکثیر سریع گیلاس وحشی نشان داد که غلظت بنزیل آمینوپورین به میزان قابل توجهی درصد شاخه زایی را تحت تاثیر قرار می دهد. بطوری که ترکیبی از ۰/۵ میلی گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین و ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر تیدیازرون سبب افزایش شاخه زایی (۶/۸۳٪ شاخه زایی به ازای هر ریزنمونه) شد. در این بررسی بیش از ۷۳٪ از ریزنمونه‌ها بعد از استفاده از ۰/۳ میلی گرم در لیتر اسید ایندول بوتریک ریشه دار شدند.

Pruski و همکاران (۳۱ ) در بررسی تکثیر دو رقم گیلاس از جوانه‌های در حال رکود به عنوان ریزنمونه استفاده نموده و گزارش کردند که استفاده از محیط کشت MS با ۰/۴۹ مول اسید ایندول بوتریک و یا ۸/۸۸-۴/۴۴ مول ۶- بنزیل آمینوپورین برای شروع محیط مناسبی بوده و در محیط حاوی ۰/۹۱ مول تیدیازرون عکس العمل مناسب ریشه دهی را بدست آوردند.

با توجه به درصد پایین موفقیت در تکثیر رویشی ژنوتیپ‌های پاکوتاه گزینش شده محلب، این پژوهش با هدف بررسی امکان دستیابی به پروتکل ریزازدیادی و تکثیر انبوه ژنوتیپ‌های پاکوتاه اجرا گردید.

## مواد و روش ها

جوانه‌های یک ساله چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب به عنوان ماده گیاهی در این آزمایش مورد استفاده قرار گرفتند. بدین منظور در اواخرزمستان تا اواسط بهار از جوانه‌های درختان گزینش شده نمونه برداری شد. نمونه‌های گیاهی پس از انتقال به آزمایشگاه با مایع ظرفشویی و آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به قطعاتی در اندازه‌های کوچک( ۵-۳ میلیمتر) و بزرگ(۱۰- ۷ میلیمتر) به طوری که در هر قطعه یک جوانه وجود داشته باشد، تقسیم گردیدند. قطعات گیاهی پس از شستشوی مجدد با آب مقطر استریل، به مدت ۳۰ ثانیه در اتانل ۷۰٪ غوطه ور و سپس با کلرور جیوه با غلظت ۰/۱٪، ۰/۲٪ یا ۰/۳٪ به مدت ۲ یا ۴ دقیقه ضدعفونی گردیدند. ریزنمونه‌ها پس از تیمار سه بار با آب مقطر استریل شستشو شدند. از ریز نمونه‌های تهیه شده، تعداد ۱۰۰ جوانه از هر ژنوتیپ(۵ تکرار و هر تکرار شامل ۲۰ نمونه) در شرایط کاملاً استریل به داخل ارلن‌های ۲۵۰ میلی لیتر محتوی ۵۰ میلی لیتر محیط کشت بر پایهMS(۲۴) که به آن ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر،BAP ۰/۵میلی‌گرم اسید جیبرلیک، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار اضافه شده بود منتقل گردیدند. ظروف کشت در اتاق رشد با ۱۶ ساعت روشنایی در ۲۲ درجه سانتیگراد و ۸ ساعت تاریکی در ۱۸ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. انتقال جوانه‌ها به محیط کشت جدید هر سه هفته یک بار تا رسیدن نمونه‌ها به طول حدود ۲ سانتیمتر انجام گردید.

جهت مطالعه پرآوری، گیاهچه‌های تولید شده از محیط کشت خارج و به داخل ظروف حاوی ۴۰ میلی لیتر محیط کشت مشابه محیط کشت مرحله استقرار با این تفاوت که هورمون‌های BAP با غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر، IBA با غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر و اسید جیبرلیک به غلظت‌های ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر به محیط کشت اضافه گردیده بود، منتقل و در شرایط محیطی مشابه مرحله قبل نگهداری شدند.

به منظور مطالعه محیط مناسب ریشه زایی گیاهچه‌های پرآوری شده به طول ۲ سانتیمتر از یکدیگر جدا و به داخل ظروف محتوی ۴۰ میلی لیتر محیط کشت مشابه مرحله استقرار با ترکیبات مختلف هورمونی (در لیتر IBA=۰/۵، IBA=۰/۸، IBA=۱/۵، NAA=۱، NAA=۲، IBA=۰/۵، NNA =+۲ میلی‌گرم منتقل گردیدند. در تمامی محیط‌های مورد استفاده pH محیط قبل از اتوکلاو به ۵/۷ تنظیم گردید.

در این تحقیق درصد جوانه‌های استریل شده زنده، درصد جوانه‌های مرده، درصد آلودگی، میزان و کیفیت پرآوری شاخه‌ها و همچنین درصد ریشه زایی ژنوتیپ‌ها مورد مطالعه قرار گرفت.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار که هر تکرار شامل ۲۰ نمونه بود اجرا گردید. داده‌های حاصل مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن انجام شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری MSTATC استفاده گردید.

## نتایج و بحث

بررسی به منظور دستیابی به پایه‌های پاکوتاه گیلاس در بین ژنوتیپ‌های بومی محلب نشان داد که تعدادی از این ژنوتیپ‌ها می‌توانند مورد استفاده قرار گیرد. با توجه به درصد پایین موفقیت در تکثیر رویشی و از طرفی به دلیل اینکه کشت درون شیشه‌ای می‌تواند سرعت افزونش گیاهان را تسریع کند، در این بررسی تلاش شد تا به پروتکل ریزازدیادی برای ژنوتیپ‌های گزینش شده محلب که به عنوان پایه پاکوتاه گیلاس مورد استفاده قرار می‌گیرد دست یافت.

### استریل سطحی جوانه

نتایج نشان داد جوانه‌های تهیه شده در اواخر زمستان بهتر از جوانه‌های اواسط بهار استریل شدند. جوانه‌های بهاره به تیمارهای استریل حساس بودند و خیلی زود قهوه‌ای شدند. این نتایج با یافته‌های ایزد پناه(۱) که بهترین زمان برداشت نمونه را فصل زمستان گزارش کرده است همخوانی دارد. ولی با نتایج بدست آمده توسط برخی از محققان(۱۰، ۱۸، ۳۳) مبنی بر مناسب بودن نمونه‌های بهاره برای استریل، مغایرت دارد. آنچه در توضیح این تناقض می‌توان به آن اشاره کرد این است که جوانه‌های بهاره دارای پوشش نرمی بوده که با ضعیف‌ترین تیمارهای استریل آسیب دیده و فقط در حالتی قابلیت استریل شدن را دارند که درخت مادری در شرایط کنترل شده گلخانه کشت شده باشد. از آنجائیکه درختان مادری در این مطالعه به علت رشد در محیط طبیعی بسیار آلوده بودند، امکان بکارگیری جوانه‌های بهاره نبود.

اندازه ریزنمونه در موفقیت استریل و زنده مانی جوانه‌ها موثر می‌باشد. هر چه اندازه ریز نمونه بزرگ‌تر باشد، زنده مانی جوانه‌ها بیشتر ولی آلودگی سطحی آن‌ها افزایش می‌یابد(شکل ۱).

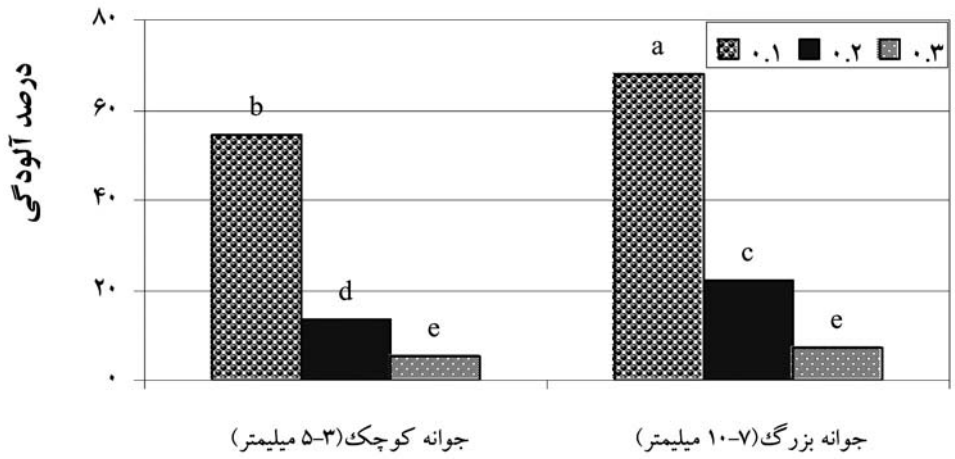
نتایج همچنین نشان داد، ریزنمونه‌هایی که تحت تیمار کلرورجیوه



پژوهش و سازندگی
www.SID.ir

Archive of SID






شکل ۱- مقایسه اثرات متقابل اندازه نمونه و غلظت کلرور جیوه(۰/۱٪، ۰/۲٪ یا ۰/۳٪ ) بر درصد آلودگی جوانه‌های محلب

بـا غلظت بالا و مدت زمان طولانی قرار گرفتند، پس از انتقال به محیط کشـت، جوانه‌هـا کاملاً قهـوه‌ای و متعاقـب آن از بین رفتنـد (جدول ۱). Pevalek-Kozlina (۲۹)، Jones, Hoopgood) (۲۰) موفقیـت در ضدعفونی سـطحی ریزنمونه گیلاس با اسـتفاده از هیپوکلریت سدیم یا کلسـیم را گزارش کردند. این در حالی اسـت که در نمونه های گیاهی ما در این مطالعه تیمارهای هیپوکلریت سـدیم یا کلسـیم در ضدعفونی سطحی موثر نبودند(نتایج ارایه نشده است). اما ضدعفونی با کلرید جیوه، اثر خوبی نشـان داد. عدم تاثیر هیپوکلریت سـدیم و کلسیم ممکن است بدلیـل تهیـه ریزنمونه گیاهی از درختان رشـد یافته در شـرایط مزرعه باشد.

اعمال تیمارهای اسـتریل روی ریزنمونه‌ها نشـان داد که اسـتفاده از کلرورجیـوه ۰/۲ درصد به مدت ۲ دقیقه در مقایسـه با سـایر تیمارها در کنتـرل میزان آلودگـی ریزنمونه‌ها موثرتر بـود (جدول ۱). ایـن نتایج با یافته‌های سایر پژوهشـگران مبنی بر تاثیر کلرید جیوه در کنترل آلودگی ریزنمونه های گیاهی در محیط کشت درون شیشه‌ای همخوانی دارد(۱۰، ۱۸).

## استقرار، تکثیر و طویل شدن شاخه‌ها

ریز نمونه‌های کشـت شـده ۴۰ تا ۶۰ روز پس از کشـت بر حسـب ژنوتیپ، شـاخه‌هایی به طول ۲ سـانتی متر تولید کردند. نتایج نشـان داد که افزایش غلظت BAP و اسـید جیبرلیک موجب تشـکیل کالوس در انتهای جوانه‌ها می‌گردد و با انتقال نمونه‌ها به محیط کشـت مناسب و افزایـش دفعات واکشـت می‌توان از تولید کالوس ممانعـت نمود. پس از انجام سـه نوبـت واکشـت جوانه‌ها متورم و شـروع به رشـد نمودند و ریزقلمه‌هایـی تولیـد گردید که پس از انتقال به محیط شـاخه زایی و انجام واکشـت‌های متوالی تعداد زیادی شاخه و جوانه تولید نمودند که با افزایش هر واکشت تعداد آن‌ها افزایش یافت.

Muna و همـکاران(۲۵) گـزارش کردنـد در محیط حـاوی مقادیر کـم NAA یا IBA به ویژه زمانی که در ترکیـب با غلظت های بالای BA همراه هسـتند، تشکیل کالوس اتفاق افتاده و شاخه های نابجا تمایز می یابنـد. Eliasson و Nordstrom (۲۶) نیـز گزارش کردند کـه در محیط حاوی BA، شـاخه زایی زیادی اتفاق افتاد. نقش BA در محیط کشـت، شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخه های جدید است. اثر آشکار دیگر حضور BA در محیط اثر بازدانگی در تشکیل ریشه می باشد. این نتایج با یافته‌های ما در این مطالعه همخوانی دارد.

تعداد شاخه‌های تولیدی در هر ژنوتیپ با توجه به محیط کشت مورد اسـتفاده تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند. بیشترین مقدار شاخه زایی(۲/۱) درمحیط کشـت شماره۱ که دارای ۱ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک و ۱ میلی گرم در لیتر BAP بود، بدست آمد. برای این صفت محیط شماره ۲ با میانگین تولید ۱/۵ جوانه در هر نمونه گیاهی کمترین عملکرد را نشـان داد(شـکل ۲). در این محیط غلظت اسید جیبرلیک و BAP به ترتیب ۲ و ۱/۵ میلی گرم در لیتر بود(جدول ۲).

Dorkovic (۱۴) در بررسـی تکثیر سـریع گیلاس وحشی نشان داد که غلظـت بنزیل آمینوپورین به میزان قابل توجهی درصد شـاخه زایی را تحـت تاثیـر قرار می دهد. بطـوری که ترکیبـی از ۰/۵ میلی گرم در لیتـر بنزیـل آمینو پوریـن و ۰/۰۵ میلی گرم در لیتر تیدیازرون سـبب افزایش شاخه زایی (۶/۸۳٪ شاخه زایی به ازای هر ریزنمونه) شد. Dardi و همـکاران(۱۲) نیز گزارش کردنـد، میزان پرآوری در یـازده اکوتیپ محلب روی محیط کشـت مشـابه از ۱/۵ تا ۴/۵ متغیر بود، این نتایج با یافته های ما در این پژوهش همخوانی دارد. بررسـی اثر محیط کشـت بر کیفیت شـاخه‌های پرآوری شده نیز نشـان داد که شاخه‌های پرآوری شـده در محیط کشـت حاوی غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر IBA، ۱ میلـی گـرم در لیتر BAP و ۱ میلی گرم اسـید جیبرلیـک از کیفیت بهتـری برخـوردار بودند(جدول ۲). با افزایش غلظـت BAP تعداد کمی از جوانه‌های بوجود آمده رشـد طولی داشـتند و تبدیل به شاخه شدند. ایـن نتایج با یافته‌های سـایر پژوهشـگران (۹، ۱۷، ۱۹، ۲۸، ۳۳) که غلظت ۰/۱ تا ۶ میلی گرم در لیتر BAP را برای تکثیر گزارش کرده اند، همخوانـی دارد. اما به دلیل اثرات نامطلوب اسـتفاده از غلظت‌های بالای BAP از جمله رشـد چند شـاخه‌ای(۴) مقادیر کمتر ایـن تنظیم کننده رشـد توصیه می‌شود. نتایج همچنین نشـان داد میزان پرآوری شاخه‌ها و کیفیت آن‌ها علاوه بر ترکیبات محیط کشـت تحـت تأثیر ژنوتیپ نیز می‌باشـد. ژنوتیپ شماره ۲۴۷ با میانگین ۲/۳ بیشترین میزان پرآوری را



www.SID.ir

Archive of SID



جدول ۱- مقایسه میانگین(به روش دانکن در سطح۱٪ ) تیمارهای استریل بر زنده مانی و حذف آلودگی‌های جوانه‌های محلب

| تیمار | درصد جوانه‌های استریل | درصد جوانه‌های مرده | درصد آلودگی |
|---|---|---|---|
| کلرورجیوه ۰/۱٪ به مدت ۲ دقیقه | ۳۳/۰d | ۱۶/۷d | ۵۰/۳a |
| کلرورجیوه ۰/۱٪ به مدت ۴ دقیقه | ۴۷/۳b | ۳۱/۱c | ۲۱/۶b |
| کلرورجیوه ۰/۲٪ به مدت ۲ دقیقه | ۶۲/۷a | ۳۱/۱c | ۶/۲c |
| کلرورجیوه ۰/۲٪ به مدت ۴ دقیقه | ۳۴/۷c | ۶۰/۰b | ۵/۳c |
| کلرورجیوه ۰/۳٪ به مدت ۲ دقیقه | ۲۰/۰d | ۷۳/۰a | ۷/۰c |
| کلرورجیوه ۰/۳٪ به مدت ۴ دقیقه | ۱۰/۰d | ۸۴/۲a | ۵/۸c |

* میانگین‌هایی که در هر ستون دارای یک حرف مشترک می‌باشند دارای اختلاف معنی دار نیستند.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ژنوتیپ بر میزان و کیفیت شاخه‌های پرآوری شده پس از سه بار واکشت

| شماره ژنوتیپ | میزان پرآوری شاخه روی محیط‌های کشت | | | | کیفیت پرآوری شاخه روی محیط‌های کشت | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ۱ | ۲ | ۳ | میانگین | ۱ | ۲ | ۳ |
| ۲۴۷ | ۲/۹a | ۱/۸cd | ۲/۲b | ۲/۳A | A | A | B* |
| ۲۶۵ | ۱/۸cd | ۱/۳gh | ۱/۵ef | ۱/۵C | A | B | C |
| ۱۸۸ | ۱/۵fg | ۱/۲h | ۱/۳gh | ۱/۳D | A | B | C |
| ۱۸۷ | ۲/۲b | ۱/۷de | ۱/۹c | ۱/۹B | A | A | B |
| میانگین | ۲/۱A | ۱/۵C | ۱/۸B | | | | |

* میانگین‌هایی که در هر ستون و ردیف دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آزمون دانکن در سطح ۱٪ معنی دار نیستند.

A = ریز نمونه‌ها قوی الرشد، پرآوری شاخه بدون علایم نکروز شدن مریستم انتهایی، زردشدن برگ و یا شیشه‌ای شدن بافت

B =کمتر از ۱۵٪ از شاخه‌های پرآوری علایم نکروز شدن مریستم انتهایی، زردشدن برگ و یا شیشه‌ای شدن بافت را نشان می‌دهند

C = ریز نمونه‌ها ضعیف، ۱۵-۳۰٪ از شاخه‌های پرآوری علایم نکروز شدن مریستم انتهایی، زردشدن برگ و یا شیشه‌ای شدن بافت را نشان می‌دهند

نشـان داده در صورتیکه کمترین پاسـخ برای این صفت توسـط ژنوتیپ شماره ۱۸۸ با میانگین ۱/۳ بدست آمد.

## ریشه زایی

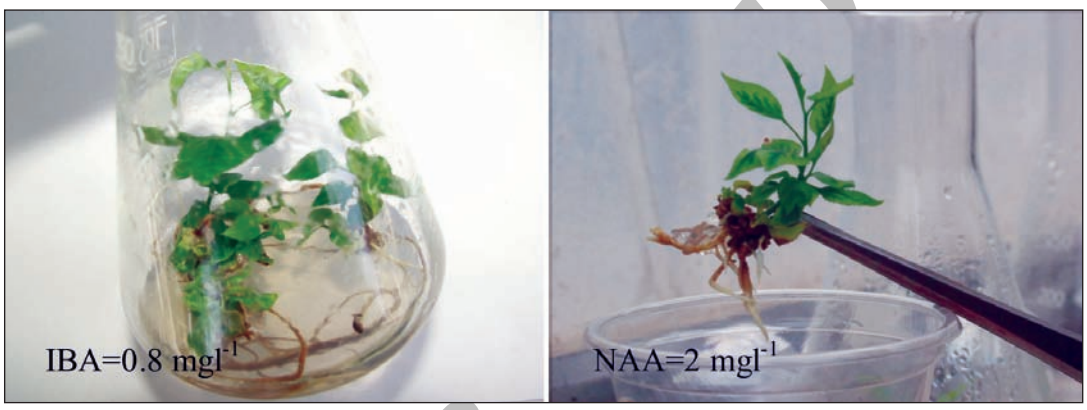
بر اسـاس نتایج حاصل درصد ریشـه زایی بر حسب غلظت هورمون متفاوت می‌باشـد. غلظت ۰/۸ میلی گرم در لیتر IBA درصد ریشه دهی رضایت بخشـی را در ژنوتیپ‌های مورد بررسـی تحریک نمـود. بهترین غلظت هورمونی برای ریشـه دار کردن شاخه‌ها IBA به میزان ۰/۸ میلی گـرم در لیتـر بود (جدول ۳). گرچه شـاخه‌ها در حضور IBA بـه تعداد کمتری ریشه دار شدند، اما این ریشه‌ها نسبت به ریشه‌های بوجود آمده در حضور NAA وضعیت طبیعی تری داشتند(شـکل ۳). ریشـه‌هایی که در حضـور NAA به خصوص در غلظت‌های بالا بوجـود آمدند، متورم و شـکننده بودند. این نتایج با دریافت‌های Dardi (۱۲) که غلظت ۳- ۰/۸ میلی گرم در لیتر IBA را جهت ریشـه زایی اکوتیپ‌های محلب گزارش کـرده انـد، Phillip و همکاران(۳۰ ) و Caboni و همـکاران (۷) که در بررسـی ریشـه زایی بادام در کشت درون شیشـه ای دریافتند IBA در



www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۲- مقایسه اثرات محیط کشت بر میزان پرآوری شاخه




شکل ۳- اثرات تیمارهای ریشه زایی بر درصد و کیفیت ریشه

تشکیل ریشه های نابجا موثرتر است، همخوانی دارد، ولی با نتایج ایزدپناه (۱) که بهترین غلظت هورمونی برای ریشه دهی شاخه‌های گیلاس وحشی را ۲ میلی گرم در لیتر NAA و با دریافت‌های Damiano و Caboni(۶) و VermaوRuginی(۳۴) که گزارش کردند IAA و NAA بسیار موثرتر هستند، مغایرت دارد. به نظر می‌رسد تفاوت در گونه گیاهی تا حد زیادی دلیل این مغایرت باشد.

نتایج همچنین نشان داد که بر حسب ژنوتیپ، درصد ریشه زایی متفاوت می‌باشد، به گونه‌ای ژنوتیپ‌های شماره ۲۴۷ و ۱۸۷ با ۴۱/۵ و ۱۰/۰ درصد به ترتیب بیشترین و کمترین میزان ریشه زایی را نشان دادند. این نتایج با دریافت‌هایVermaوRuginی(۳۴)که گزارش کردند واکنش به اکسین تحت تاثیر خصوصیات ژنوتیپ بوده و با نتایج Dardi (۱۲) که گزارش کردند درصد ریشه‌زایی بین ۸ اکوتیپ از صفر تا ۸۸ درصد متغیر بود، همخوانی دارد.

## تشکر و قدردانی

از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، بخش تحقیقات باغبانی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی کمال تشکر و قدردانی را دارم. از همکاران محترم تحقیقات باغبانی خراسان و سرکار خانم مهندس لیوذا ترابیان که در امور آزمایشگاهی این تحقیق همکاری نمودند، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

۱ - ایزد پناه، م. ۱۳۸۰؛ ازدیاد گیلاس وحشی از طریق کشت درون شیشه ای. پژوهش و سازندگی، ۶۸-۵۲:۷۴.

۲ - گودرزی. ر.۱۳۷۴؛ بررسی تکثیر گیلاس از طریق کشت بافت. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تربیت مدرس.

3- Bhagwat, B. and. D.Lane. 2004; *In vitro* shoot regeneration from leaves of sweet cherry (*Prunus avium*) lapins and Sweetheart. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 78:173-181.

4- Biondi, S. and T. Thorp.1982; Growth regulator effects, metabolite and resperation during shoot initiation in cultured cotyledon explants of *Pinus nadiata*. Bot.Gaz. 143:20-25.

5- Boxus P.1999; Micropropagation of strawberry via axillary shoot proliferation. In: Plant Cell Culture Protocols Methods in Molecular Biology. Part III. Plant Propagation *In Vitro*. Hall R. D. (ed.) Humana Press Inc., Totowa NJ, 111, 103-114.

6- Caboni, E. and. C. Damiano.1994; Rooting in two almond genotypes. Plant Sci. 96:163-165.

7- Caboni, E., M.G. Tonelli, P. Lauri, P. Iacovacci, C. Kevers, C. Damiano and T. Gaspar. 1997; Biochemical aspects of almond microcuttings related to *in vitro* rooting ability. Bio. Plant. 39:



www.SID.ir

Archive of SID



جدول ۳- مقایسه اثرات تنظیم کننده‌های رشد بر درصد ریشه زایی ژنوتیپ‌های محلب

| غلظت تنظیم کننده‌های رشد (میلی گرم در لیتر) | درصد ریشه زایی ژنوتیپ‌های محلب | | |
|---|---|---|---|
| | ۲۴۷ | ۲۶۵ | ۱۸۷ |
| IBA=۰ /۵ | ۲۵/۵d | ۱۵/۳g | ۱۱/۷hi |
| IBA= ۰/۸ | ۴۳/۲a | ۳۰/۲c | ۲۵/۷d |
| IBA= ۱/۵ | ۳۵/۴۰b | ۱۳/۰h | ۱۵/۷g |
| NAA= ۱ | ۱۰/۷ i | ۱/۲j | ۲/۵j |
| NAA= ۲ | ۱۵/۷ g | ۲۰/۸e | ۱/۵j |
| NAA=۲/۰ + IBA=۰/۵ | ۳۴/۹b | ۱۸/۷f | ۱۱/۳hi |
| میانگین درصد ریشه زایی | ۲۷/۳a | ۱۶/۵b | ۱۱/۴c |

* میانگین‌هایی که در هر ستون یا هر ردیف دارای یک حرف مشترک می‌باشند از نظر آزمون دانکن در سطح ۱٪ معنی دار نیستند.


91-97.

8- Chee, R. and R.M. Pool.1987; Improved inorganic media constituents for *in vitro* shoot multiplication of Vitis. Scientia Hort. 32:85-95.

9- Chernets, A.M. and V.A. Smirnov. 1984; Optimization of the nutrient medium for micropropagation of Mazzard F12/10. Sadovodstro, Vinogradarstro Vinodielie Moldacii. 6:31-33.

۱0- Chalupa, V. 1987; European hardwoods In: J.M. Bonga, D.J. Duzan (eds). Cell and tissue culture in forestry, Vol. 3, Cas Histories: Gymnosperms, angiosperms and palms. Martinus Nijhoff Publishers, Dordrech, pp: 224-246.

11- Cheng, T.Y. 1978; Propagation woody plants through tissue culture. American Nurseryman 147:94-102.

12- Dardi, G, G. Vito, and A. Standardi. 1996; *In vitro* mass propagation of eleven prunus mahaleb ecotypes. Acta Hort. 410, 477- 483.

13- Driver, J.A. and H. Kunyoxi. 1984; *In vitro* propagation of paradox walnut rootstocks. Hort. Science 19:507-509.

14- Dorkovic, J. 2006; Rapid micropropagation of mature wild cherry (*Prunus avium L.*). Biologia Plantarum 50(4): 733-736.

15- Giorgio, V. and A. Standardi, 1993; Growth and production of two sweet cherry cutlivar grafted on 60 ecotypes of prunus mahaleb. Acta Hort. 410: 471– 476.

16- Hammatt, N. and N. J. Grant. 1997; Micropropagation of mature British wild cherry. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 47: 103-110.

17- Hedric, U.P. 1915;The cherries of New York, N.Y.Agric.Exp.Stat., Geneva, N.Y.74PP.

18- Hohtola, A. 1988; Seasonal changes in cultures from mature scots pin. Plant Cell Tissue and Organ Cult. 15:211-222.

19- Janekova, M.1985; Root induction selected vegetatively propagated clone of Mazzard cherry (*Prunus avium*) *in vitro* culture Sbornik Urtix. Zahradnic Tvi. 12:165-168.

20- Jones, O.P. and M.E. Hopgood. 1979; The successful propagation *in vitro* of two rootstocks of prunus: The plum rootstock *(P.insititia*) and the cherry rootstock F12/1(*P. avium*). J.Hort. Sci. 54:63-66.

21- Kloutvor, J.and. F. Paprstein. 1998; Dwarf rootstocks for sweet cherries from Czech Republic. (Abstr.) In: Anniversary Conference of Hungarian Sweet Cherry Breeding. June 17-19. 1998; Budapest p. 31.

22- Lioyd, G.B. and B.H. Mc Crown. 1980; Commercially feasible micropropagation of mountain lourel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot tip culture. Proc. Inter. Plant Propotor. Sco. 30: 421-437.

23- Matt, A. and. A.J. Johannes.2005; *In vitro* plant regeneration from leaves and internodes sections of sweet cherry cultivars (*Prunus avium L.*). Plant Cell Reports 24(8):468-476.

24- Murashige, T. and F. Skoog. 1962; A revised medium for rapid growth and bioassays with tobaco tissue culture. Physiol Plant 15:437-442.

25- Muna, A.S., A.K. Ahmad, K. Mahmoud and A.R. Kalhout.




www.SID.ir

Archive of SID



1999; *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 59:203-208.

26- Nordstrom, A. and L. Eliasson. 1986; Uptake and translocation of C14-labled benzylaminopurine in apple shoots grown *in vitro* in relation to shoot development. Physiol Plantarium 68(3):431-435.

27- Parfitt, D.E. and A.A.Almedhi. 1994; Use of high $CO_2$ atmosphere and medium modifications for the successful micropropagation of pistachio. Scientia Hort. 56(4): 321-329.

28- Paul, L. and W. Feuch.1985; Rooting sweet and sour cherry cultivars and clones in vitro Mitteilungen Klosterneubuy Rebe und Wein, Obstau un fruchterwertung 35:69-74.

29- Pevalek-Kozalina, B. and S. Jelaska. 1987; Microclonal propagation of *Prunus avium*. Acta Hort. 212:599-601.

30- Phillip, J.A., G.C. Graham and S. Magaret. 2001; *In vitro* rooting of almond (*Prunus dulcis Mill*.). *In vitro* Cell Dev. Biol.-Plant 37:778-785.

31- Pruski, K., T. Astatkie and J. Nowak. 2005; Tissue culture propagation of mongolian cherry (*Prunus fruticosa*) and Nanking cherry (Prunus tomantosa). Plant Cell, Tssue and Organ Culture, 82(2):207-211.

32- Quoirin, M.and P. Lepoivre.1977; Improved media for in vitro culture of Prunus. Acta Hort. 78:437-442.

33- Reuveni, O., D.R. Sheleinger and V. Lavi. 1990; In vitro clonal propagation of dioecious Carica papaya. Plant Cell Tissue and Organ Cult. 20:41-46.

34- Rugini, E. and D.C. Verma. 1983; Micropropagation of difficult-to-propagate almond (Prunus amygdalus Batsch) cultivar. Plant. Sci. Lett. 28:273-281.

35- Sansavini,S. and S. Lougi. 1996; Performance of the sweet cherry cultivar Van on new clonal rootstocks. Acta Hort. 410: 363-372.

36- Schenk, R.U. and A.C. Hildebrandt. 1972; Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plant cell culture. Can. J. Bot. 50:199-204.

37- Zilkah,S..E.Faningersh,and. A.Rotbaum.1996; *In vitro* propagation of three M×M (*Prunus avium*×*P. mahaleb*) cherry rootstocks. Acta Hort. 314:516-521.

Archive of SID



www.SID.ir