مجله علوم و فنون باغباني ايران جلد ۱۱ شماره ۱ صفحه هاي ۱ تا ۱۰ (۱۳۸۹)

ارزيابي قابليت ريشه زايي چند دورگه بين گونه اي جنس پرونوس در كشت درون شيشه اي[۱]

EVALUATION OF *IN VITRO* ROOTING OF SOME INTERSPECIFIC HYBRIDS IN *PRUNUS* GENUS

جليل دژمپور، وازگين گريگوريان، اسلام مجيدي و فاطمه عنصرودي[۲]

چكيده

استفاده از دورگه هاي بين گونه اي به ويژه در جنس پرونوس از نظر پايه پيوندي به دليل داشتن برتري نسبت به ساير پايه ها از چند دهه قبل مورد استفاده بوده است. در اين پژوهش قابليت ريشه زايي دورگه هاي بين گونه اي HS304، HS302 (*Prunus armeniaca* × *P. cerasifera*) و HS312 , HS314 و GF677 (*P. amygdalus* × *P. persica*) در كشت درون شيشه اي در دو محيط كشت MS[۳] تغيير يافته وWPM[۴] با نصف غلظت عناصر پرمصرف به همراه هورمون IBA[۵] (صفر، ۰/۵، ۱/۵،۱ و ۲ ميلي گرم در ليتر) مطالعه شدند. در آزمايش ديگر، قسمت پاييني ريزقلمه ها با غلظت هاي (صفر، ۵۰۰، ۷۵۰ و ۱۰۰۰ ميلي گرم در ليتر) IBA آغشته و سپس كشت شدند. كليه نمونه ها پس از كشت به مدت ۷ روز در تاريكي نگهداري شده و سپس به شرايط اتاق رشد استاندارد منتقل شدند. نتايج نشان داد دورگه هاي هلو× بادام در محيط كشت MS تغيير يافته و دورگه هاي زردآلو× گوجه در محيط كشت WPM به ترتيب در غلظت هاي ۱ و ۲ ميلي گرم در ليتر IBA با ۷ روز تاريكي به ترتيب ٦٥ و۷۰% ريشه زايي داشتند. با اين حال در روش آغشته كردن ته ريزقلمه ها به IBA با غلظت ۷۵۰ ميلي گرم در ليتر ريشه زايي بيشتر (۷۵ تا ۸۰ %) بود. مقايسه ميانگين ها نشان داد دورگه هاي HS314 و HS302 بالاترين درصد ريشه زايي، تعداد ريشه و طول ريشه را نسبت به ساير نژادگان ها داشتند. ريزقلمه هاي ريشه دار شده جهت سازگاري با محيط بيرون به گلدان هاي حاوي پرلايت و پيت به نسبت ۱:۱ منتقل و در گلخانه با شرايط مطلوب نگهداري شدند. سازگاري گياهچه هاي ريشه دار شده بيش از ۷۵% بود.

واژه هاي كليدي: جنس پرونوس، دورگه بين گونه اي، ريشه زايي، كشت درون شيشه اي.

مقدمه

ويژگي هاي بسيار مطلوب و متنوعي كه در ميان دورگه‌هاي بين‌گونه‌اي وجود دارد نويدبخش حل بيشتر معضلات مربوط به پايه‌هاي برخي درختان ميوه به ويژه در جنس پرونوس (*Prunus*) بوده و اين مهم به دليل امكان تلاقي (هرچند بسيار اندك) بين‌گونه‌هاي مختلف اين جنس مي‌باشد (۷). ويژگي هاي برتر در

۱- تاريخ دريافت: ۸۸/۵/۲۲ تاريخ پذيرش: ۸۸/۱۰/۲

۲- به ترتيب استاديار مركز تحقيقات كشاورزي و منابع طبيعي آذربايجان شرقي (dejampour@yahoo.com)، استاد گروه باغباني دانشكده كشاورزي، دانشگاه تبريز، استاد پژوهشكده بيوتكنولوژي كشاورزي، كرج، دانشجوي كارشناسي ارشد بيوتكنولوژي گياهي، دانشگاه تبريز، تبريز، جمهوري اسلامي ايران.

۳- Murashige and Skoog ۴- Woody Plant Medium ۵- Indolebutyric Acid

دورگه‌هاي بين‌گونه‌اي جنس پرونوس مانند دورگه "هلو × بادام"، "هلو × آلو"، "بادام × گوجه" و "گوجه × زردآلـو" وجود داشته و به طورکلي بهتر از والدين خود به عنوان پايه عمل مي نمايند. بدين جهت بيشتر پايه‌هاي تجـاري و رويشي درختان ميوه هسته‌دار در دنيا حاصل تلاقي‌هاي بين گونه اي است (۳).

ريشه زايي در واقع شاخص ترين مرحله ريزافزايي بوده كه در آن ريزشـاخه هـاي درون شيشـه اي بـه گياه مستقل تبديل مي‌گردند و گياه توانايي قدرت جذب از طريق ريشه را به دست مي‌آورد (۱). نمونه هاي گيـاهي درختان چوبي و چند ساله به طور كلي سخت ريشه زا هستند، با اين حال عوامل بسـيار متعـددي مـي تواننـد در ريشه زايي ريزقلمه هاي درون شيشه اي درختان چوبي تاثيرگذار باشند. نوع محيط كشت، غلظت نمک ها، نـوع و غلظت تنظيم كننده هاي رشد، شرايط كشت و نگهداري نمونه ها، نوع گونه گياهي، تركيبات فنلـي موجـود در گيـاه از جمله اين عوامل مي باشند (۱، ۳، ۱۴). بررسي پژوهشگران نشان مي دهد، كـاهش غلظـت مـواد معـدني محـيط كشت به نصف، ريشه زايي را بهبود مي بخشد. همچنين نگهداري ريزنمونه هاي گياهي پـس از كشـت در تـاريكي براي مدت معيني در ريشه زايي ريزقلمه هاي جنس پرونوس و مالوس (*Malus*) بسيار مناسب گزارش شده است (۹، ۱۷).

فوتوپلوس و ساتيروپلوس[۱] (۱۵) در بررسي عوامل موثر در ريشه زايـي دورگـه هلـو × بـادام، كـاهش غلظت مواد معدني به نصف در محيط كشت MS را سبب افزايش درصد ريشه زايي بيان نمودند. همچنين اظهـار داشتند افزايش غلظت هورمون IBA از صفر به ۲ ميلي گرم ليتر در هر دو محيط كامل و به نصف كاهش يافتـه باعث افزايش تعـداد ريشـه در هـر ريزقلمـه شـده ولـي در طـول ريشـه هـاي حاصـل تغييـر معنـي داري نـدارد. پژوهش هاي گروهي از پژوهشگران نشانگر اين است كه در نتيجـه نگهـداري طـولاني مـدت شـاخه هـا در برابـر اكسين، رشد سرآغازه ريشه محدود شده و ريشه زايي با مشكل مواجه مي شود و حذف اكسين از محيط پـس از انگيـزش ريشـه زايـي مناسـب مـي باشـد (۱، ۲). برخـي منـابع افـزودن فلوروگلوسـينول[۲] بـه مقـدار ۱۰۰ ميلي گرم در ليتر را در مرحله ريشه زايي به همراه IBA توصيه مي نمايند (۱۵، ۲۱).

كاس و همكاران[۳] (۱۱) شرايط ريشه‌زايي پايه انتخابي آلوي 'Pollizo V4-CIDA' (نوعي آلـو از گـروه سنت‌جولين بوده و در اسپانيا به عنوان پايه مناسب براي بادام، هلو و آلو استفاده مي شـود) را مـورد بررسـي قرار دادند. نتايج اين پژوهش نشان داد با استفاده از ۳ ميلـي گـرم در ليتـر IBA بهتـرين نتيجـه در ريشـه زايـي ۶۱/۱۱% به دست آمد. ريوز و همكاران[۴] (۲۰) در مطالعه خود بر روي اثر جيبرلين در طويل شـدن و ريشـه‌زايـي پايه 'سـنت جـولين A' در شـرايط درون شيشـه‌اي بهتـرين نتيجـه را از محـيط نصـف غلظـت MS گرفتنـد. ايـن پژوهشگران براي مرحله طويل شدن قبل از ريشه‌زايي از جيبرلين با غلظت ۱۲/۵ ميلي گرم در ليتر و براي مرحله ريشه‌زايي از IBA با ۱۶ روز تاريكي و يا بدون تاريكي استفاده كردند.

پرز و همكاران[۵] (۱۹) ريزافزايي زردآلوي رقم 'كانينو'[۶] براي مرحله ريشه‌زايي غلظت عناصر پرمصـرف را به ۱/۳ و غلظت عناصر كم مصرف و ويتامين‌ها را به نصف غلظت اوليه كاهش دادند و بهترين نتيجه را از ايـن حالت گزارش نمودند. چانانتاپيت و همكاران[۷] (۱۰) مناسب ترين محيط و شرايط را براي ريشه‌زايي دورگه هلـو × بادام (نماگارد× تيتان) محيط نصف غلظت MS با ۰/۵ ميلي گرم در ليتـر IBA و تيمـار دو هفتـه تـاريكي عنـوان نمودند. ذوالفقاري نسب و همكاران (۵) بالاترين درصد ريشه‌زايي دورگه گوجه × زردآلو را با اسـتفاده از IBA

۱- Fotopoulos and Sotiropoulos ۲- Phloroglusinol ۳- Cos *et al.* ۴- Reeves *et al.*
۵- Perez *et al.* ۶- 'Canino' ۷- Channuntapipat *et al.*

با غلظت ۶/۵ ميلي گرم در ليتر و براي NAA با غلظت۲/۲ ميلي گرم در ليتر گزارش نمودند و نشان دادند كه با افزايش غلظت هورمون تعداد ريشه افزايش مي‌يابد به طوري كه بين غلظت‌هاي IBA و ميانگين تعداد ريشه رابطه خطي و معني داري وجود دارد ولي در مورد NAA اين رابطه به صورت رابط درجه ۳ مي‌باشد. به عبارت ديگر با افزايش غلظت NAA از يک حد معيني اثر منفي گذاشته و دوباره وقتي از يک حد معيني بالا مي رود اثر مثبتي در افزايش تعداد ريشه مي گذارد. مارتينلي[1] (۱۸) در بررسي ريشه‌زايي درون شيشه‌اي دورگه‌هاي هلو و بادام ‘هانسن ۲۱۶۸’[2] و ‘هانسن۵۳۶’، ريزنمونه ها را قبل از مرحله ريشه زايي به مدت ۱۰ روز در محيط كشت MS با دو برابر غلظت نمک ها همراه با نيترات كلسيم (۱ ميلي گرم در ليتر) نگهداري نمودند. ريزقلمه‌هاي ايجاد شده در اين دوره را بسيار مناسب براي ريشه زايي گزارش نمودند و در نهايت با استفاده از محيط (P. Lepoivre) PL با نصف غلظت نمک‌ها (پرمصرف و كم مصرف) به همراه IBA به غلظت يک ميلي گرم در ليتر بيشتر از ۹۰% ريشه‌زايي به دست آوردند.

در ايران اولين پژوهش در مورد افزايش درون شيشه اي دورگه هلو × بادام (GF ۶۷۷) توسط كمالي و همكاران (۶) در سال۱۳۸۰ اجرا گرديد. اين پژوهشگران گزارش كردند كه بهترين نتيجه در ريزافزايي اين دورگه با استفاده از محيط كشت Knop تغيير يافته به دست آمد. دژم پور و همكاران (۴) در بررسي ميزان استقرار و پرآوري در كشت درون شيشه اي دورگه هاي بين گونه اي مورد مطالعه در اين پژوهش، بيشترين ميزان درجه پرآوري و شاخه زايي را از ميان چند دورگه براي نژادگان هاي ‘HS314’, ‘HS302’ گزارش نمودند. در ادامه اين آزمايش ها، به منظور بررسي استعداد و قابليت ريشه زايي اين نژادگان ها در شرايط درون شيشه اي و در نهايت گزينش نژادگان هاي برتر اين آزمايش اجرا گرديد.

مواد و روش ها

نژادگان هاي مورد مطالعه در اين پژوهش شامل ‘HS314’ و ‘HS312’ به عنوان دورگه هلو × بادام (*P. amygdalus* ×*P. persica*)، ‘HS302’ و ‘HS304’ دورگه گوجه × زردآلو (*P. armeniaca* × *P. cerasifera*) بودند. اين دورگه ها حاصل برنامه هاي بهنژادي اجرا شده در زمينه پايه هاي رويشي درختان ميوه هسته دار از ايستگاه تحقيقات باغباني سهند بوده كه به همراه پايه ‘GF677’ به عنوان پايه شناخته شده براي هلو و بادام بررسي شدند.

زيرشاخه هاي مورد استفاده جهت ريشه زايي در اين آزمايش از پيش از طريق كشت درون شيشه اي توليد شده بودند كه از ميان آن ها ريزقلمه هايي به طول ۲ تا ۵ سانتيمتر انتخاب و در ظروف شيشه اي۱۰۰×۵۰ ميلي متري و لوله هاي آزمايش ۱۰۰×۱۵ ميلي متري حاوي محيط كشت MS تغيير يافته و WPM با نصف غلظت عناصر كم مصرف (به استثناء آهن) به همراه تنظيم كننده رشد IBA با غلظت (صفر، ۱،۰/۵، ۲،۱/۵ ميلي گرم در ليتر) كشت شدند. در آزمايش ديگر تنظيم كننده رشد IBA پس از صاف كردن در زمان كشت به صورت آغشته نمودن قسمت پاييني ريزقلمه ها، در غلظت هاي صفر، ۵۰۰، ۷۵۰ و۱۰۰۰ ميلي گرم در ليتر به مدت ۵ ثانيه استفاده شد. نمونه ها در هر دو روش پس از كشت به مدت ۷ روز در تاريكي نگهداري و سپس به شرايط اتاق رشد استاندارد (دماي ۱± ۲۲ درجه سلسيوس و ۱۶ ساعت طول روز با شدت نور ۳۰۰۰ لوكس) منتقل شدند. آزمايش به صورت فاكتوريل در قالب طرح كاملا" تصادفي با سه تكرار كه هر واحد آزمايشي ۱۰ نمونه بود اجرا گرديد و مقايسه ميانگين ها با آزمون دانكن در سطح احتمال ۵% انجام گرفت. در پايان آزمايش

۱- Martinelli ۲- ’Hansen 2168’

درصد تشکيل ريشه و قدرت ريشه‌زايي (برحسب تعداد و طول ريشه) نژادگان ها يادداشت برداري شد. به منظور سازگاري گياهچه هاي ريشه دار با محيط بيرون، نمونه هاي ياد شده از لوله آزمايش خارج و پس از شستشوي آگار از سطوح ريشه به گلدان حاوي پرلايت و پيت (۱:۱) منتقل و در اتاق رشد با سيستم کنترل دما، رطوبت و نور نگهداري شدند.

نتايج و بحث

تجزيه آماري داده ها نشان داد در هر دو روش مورد استفاده براي ريشه زايي بين نژادگان هاي مورد مطالعه و نيز بين غلظت هاي مختلف تنظيم کننده رشد IBA از لحاظ درصد ريشه زايي اختلاف معني دار وجود داشت. نژادگان هاي 'HS314' و 'HS302' به ترتيب به عنوان دورگه هلو × بادام و زردآلو × گوجه بالاترين درصد ريشه‌زايي را داشتند (جدول ۱). با اين حال در هر دو روش تيمار با اکسين، اختلاف دورگه 'HS314' با دورگه هاي 'HS312' و'GF677' در محيط کشت MS تغيير يافته و دورگه 'HS302' با دورگه 'HS304' در محيط کشت WPM از نظر ريشه دهي معني دار نبود.

در روش اول (افزودن IBA به محيط کشت درون شيشه)، بين غلظت‌هاي مختلف IBA در ريشه دهي نژادگان ها اختلاف معني دار وجود داشت و مقايسه ميانگين‌ها نشان داد بالاترين درصد ريشه‌زايي مربوط به غلظت ۱/۵ و ۲ ميلي گرم در ليتر مي‌باشد. در اين روش ميانگين درصد ريشه‌زايي نژادگان هاي مختلف با غلظت‌هاي مختلف هورمون اکسين در جدول ۱ و شکل ۱ نشان داده شده است.

جدول ۱- ميانگين درصد ريشه زايي چند دورگه بين گونه اي در سه غلظت هورموني IBA در دو محيط کشت مختلف.

Table 1. The means of rooting percentage of some interspecific hybrids in two media with 3 IBA concentrations.

		دورگه ها Hybrids				
محيط کشت Medium	غلظت IBA Concentration IBA(mg l^{-1})	'HS314'	'HS312'	'HS302'	'HS304'	'GF677'
MS تغيير يافته Modified MS	1	44.67gh	44.17ef	33.00gh	30.34h	42.33ef
	1.5	70.00a	65.13ab	46.00e	36.00g	66.18ab
	2	65.67b	50.00d	42.47ef	40.30fg	60.02c
WPM	1	30.00h	41.10f	56.00cd	45.00de	32.30gh
	1.5	35.20g	35.00g	71.12a	66.16ab	50.00d
	2	42.00ef	38.65fg	70.00a	59.00c	42.97ef

† Means with the same letters are not significantly different at 5% level of probability.

† ميانگين‌هاي با حروف مشابه اختلاف معني دار در سطح احتمال ۵% با آزمون دانکن ندارند.

با توجه به نحوه ريشه دهي نمونه ها در تعيين درصد ريشه زايي، نمونه هايي كه داراي تعداد ريشه مناسب (دست كم ۲ عدد) و طول ريشه (دستكم ۰/۵ سانتي‌متر) بودند در نظر گرفته شد (شكل ۵). بين دو محيط كشت WPM و MS تغيير يافته نيز از جهت درصد ريشه زايي و رشد ريزقلمه ها اختلاف معني دار وجود داشت.

نتايج نشان داد برهمكنش نژادگان، غلظت IBA و محيط كشت معني‌دار ($P\leq0.05$) مي باشد، بدين معني كه نژادگان هاي 'HS312'، 'HS314' و 'GF677' بالاترين ريشه زايي را در محيط كشت MS تغيير يافته با غلظت ۱/۵ ميلي گرم در ليتر IBA داشتند و نژادگان هاي 'HS302' و 'HS304' بهترين ريشه‌زايي و رشد ريزقلمه ها را در محيط WPM با نصف غلظت عناصر پرمصرف از خود نشان دادند (شكل ۱). در اين رابطه فوتوپلوس و ساتيروپلوس (۱۵) نتايج مشابهي در ريشه‌زايي درون‌شيشه‌اي دورگه هلو × بادام ('PR204/84') به دست آوردند و اعلام داشتند ريشه‌زايي در محيط MS با نصف غلظت به علاوه ۱۲ روز دوره تاريكي در غلظت‌هاي ۰/۲۵ و ۰/۵۰ ميلي‌گرم در ليتر IBA بالاترين درصد ريشه‌زايي را داشت. اين پژوهشگران همچنين عنوان نمودند كه در نمونه‌هائي كه دوره تاريكي ديده بودند غلظت پائين IBA و در نمونه‌هاي بدون دوره تاريكي بودند غلظت‌هاي بالاتر IBA ريشه هاي بيشتري توليد كردند.

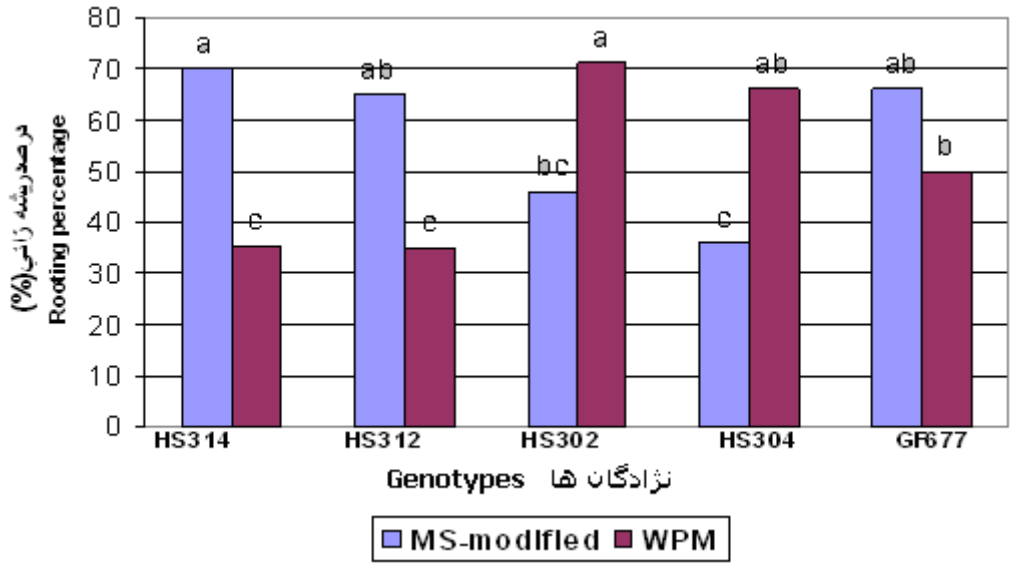

Fig. 1. Rooting percentages of hybrids in two media culture (1.5 mg l^{-1} IBA).
† Columns with the same letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

شكل ۱- درصد ريشه زائي دورگه ها در دو محيط كشت مختلف (غلظت ۱/۵ IBA mg l^{-1})
† ستون هاي داراي حروف مشابه اختلاف معني دار در سطح احتمال ۵% با آزمون دانكن ندارد.

در روش دوم يعني آغشته نمودن قسمت پاييني ريزقلمه‌ها به IBA، نتايج نشان داد اختلاف معني‌داري ($P\leq0.05$) در قدرت ريشه‌زايي نژادگان در اين روش نيز وجود دارد (شكل ۲) و مقايسه ميانگين‌ها نشانگر اين است كه نژادگان‌هاي 'HS314' و 'HS312' در محيط MS تغييريافته و نژادگان‌هاي 'HS302' و 'HS304' در محيط WPM (با نصف غلظت عناصر پرمصرف) بالاترين درصد ريشه‌زايي را دارند (شكل ۳). همچنين بين

غلظت‌هاي مختلف هورمون IBA اختلاف معني‌دار وجود داشت و بهترين غلظت براي كليه نژادگان‌ها استفاده از ۷۵۰ ميلي‌گرم در ليتر IBA براي آغشته نمودن ته ريزقلمه ها بود ولي اين غلظت با تيمار ۱۰۰۰ ميلي‌گرم در ليترIBA در برخي نژادگان ها معني‌دار نبود. درصد ريشه‌زايي نژادگان‌هاي مختلف با غلظت‌هاي مختلف هورمون IBA در دو محيط WPM و MS تغييريافته شكل هاى ۲ و۳ نشان داده شده است.

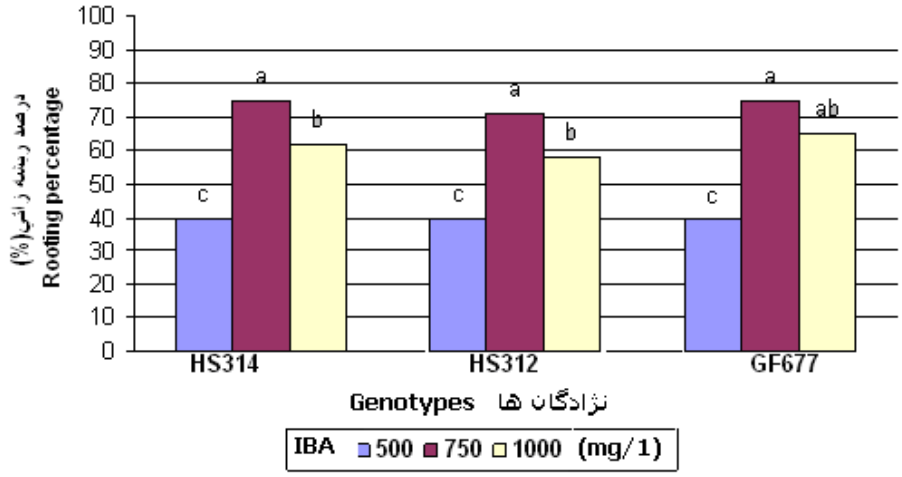

Fig. 2. Rooting percentages of almond × peach hybrids in modified MS medium with 3 IBA concentrations by dipping method.

† Columns with the same letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

شكل ۲- درصد ريشه زائي دورگه هاي هلو و بادام در سه غلظت IBA به روش آغشته كردن ته ريزقلمه ها در محيط كشت MS تغيير يافته.

† ستون هاي داراي حروف مشابه اختلاف معني دار در سطح احتمال ۵% با آزمون دانكن ندارد.

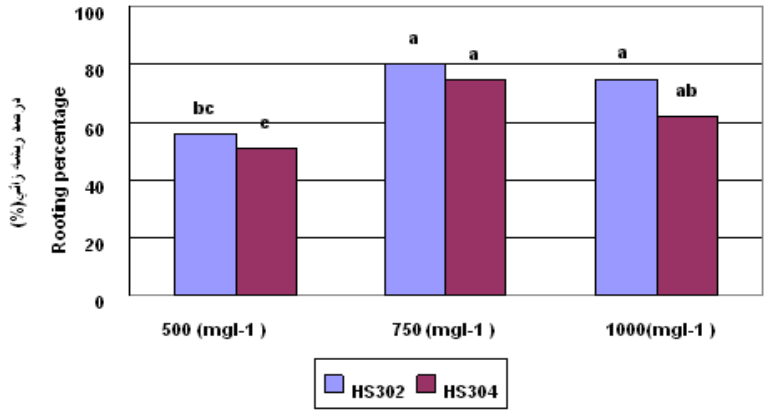

Fig. 3. Rooting percentages of apricot × prune hybrids in WPM medium with 3 IBA concentrations by dipping method.

† Columns with the same letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

شكل ۳- درصد ريشه زائي دورگه هاي زردآلو و گوجه در سه غلظت IBA به روش آغشته كردن ته ريزقلمه ها در محيط كشت WPM.

† ستون هاي داراي حروف مشابه اختلاف معني دار در سطح احتمال ۵% با آزمون دانكن ندارد.

نتايج به دست آمده از اين بررسي با نتايج آزمايش هاي كـاس و همكـاران (۱۱) در روي دورگـه هلـو و بادام و پايه Pollizo V_4 مطابقت دارد. به طوري كه اين پژوهشـگران روش آغشـته نمـودن تـه ريزنمونـه‌هـا بـه هورمون را براي نژادگان‌هاي سخت‌ريشه‌زا توصيه نمودند و بالاترين درصد ريشه‌زايي را از اين روش به دسـت آوردند.

مقايسه ميانگين درصد ريشه زايي دورگه ها در دو روش ياد شده نشـان دهنـده آن اسـت كـه فقـط در نژادگان 'HS302' اختلاف معني داري بين دو روش مورد استفاده وجود دارد. با ايـن حـال همـان گونـه كـه در شكل ۴ ديده مي شود در كليه نژادگان ها روش آغشته كردن درصد ريشه زايي بيشتري را انگيزش نموده است.

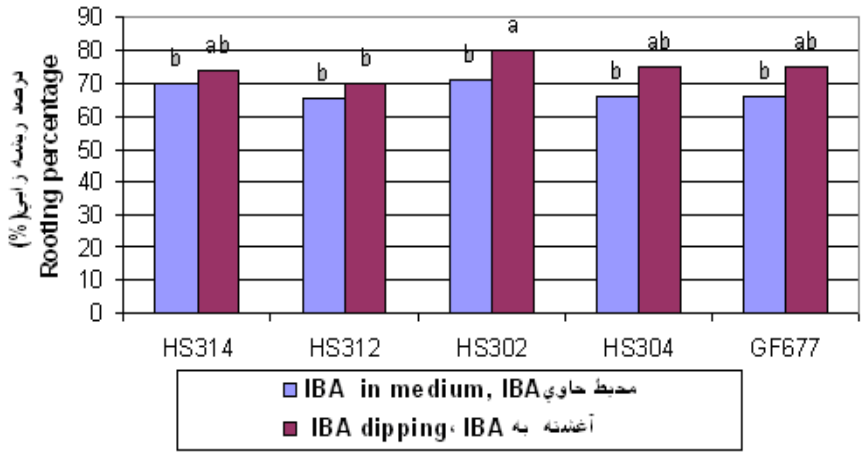

Fig. 4. Mean comparisons of rooting percentages in two treatment methods with IBA (dipping and add to medium) in some interspecific hybrids of *Prunus* genus.

† Columns with the same letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

شكل۴- مقايسه ميانگين درصد ريشه زايي در دو روش آغشته كردن ته قلمه ها به IBA و اضافه نمودن IBA به محيط كشت در دورگه هاي بين گونه اي جنس پرونوس.

† ستون هاي داراي حروف مشابه اختلاف معني دار در سطح احتمال ۵% با آزمون دانكن ندارد.

Fig. 5. *In vitro* rooting of interspecific hybrid 'HS312'.

شكل ۵- ريشه زايي درون شيشه اي دورگه بين گونه اي 'HS312'.

دژم پـور و همکـاران (۳) در بررسـي قابليـت ريشـه زايـي دورگـه هـاي بـين گونـه اي , 'HS302',
'HS312', 'HS204' 'HS314' و 'GF677' از طريق قلمه، درصد ريشه زايي مشابهي را براي آن ها گـزارش نمودند و بالاترين ريشه زايي را براي دورگه هاي 'GF677', 'HS314', 'HS302' عنوان نمودند. بنـابراين بـه نظر مي رسد از نظر درصد ريشه‌زايي همبستگي مثبت و معني داري بين افزايش از طريق قلمه (در شرايط مزرعه اي) و افزايش درون شيشه‌اي وجود دارد. به عبارت ديگر نژادگان هايي كه از طريق قلمه قدرت ريشه‌زايي بالاتري داشتند در شرايط درون شيشه اي نيز اين قابليت را از خود نشان دادند.

دژم پـور و همكـاران (۴) در بررسـي ميـزان اسـتقرار و پـرآوري دورگـه هـاي يـاد شـده در كشـت درون شيشه اي ميزان پرآوري و شاخه زايي بيشتر و مطلوبي را براي 'HS302' و 'HS314' گزارش نمودنـد. بنابراين اين نژادگان ها در مقايسه با دورگه‌هاي ديگر و 'GF677' كه به عنوان شـاهد در ايـن آزمـايش اسـتفاده شده از قابليت كشت درون شيشه اي، ريزافزايي و افزايش رويشي بيشتري برخوردار بودند.

مرحله انتقال به گلدان و سازگاري گياهچه ها

به طور ميانگين درصد موفقيت سازگاري گياهچه‌هاي ريشه دار شده در كليه نژادگان ها ۷۵% بود. بيشتر گياهچه‌هاي از بين رفته در اين مرحله مربوط به گياهچه‌هاي با رشد ضعيف و ريشه‌هاي كمتر بودند (شكل ۶). در مرحله انتقال، نژادگان 'HS302' و 'HS314' بـه علـت داشـتن ريشـه هـاي قـوي و سـالم در مقايسـه بـا سـاير نژادگان‌ها از قدرت سازگاري بيشتري برخوردار بودند.

Fig. 6. *In vitro* culture plants of interspecific hybrid 'HS314'.

شكل ۶- گياهچه هاي حاصل از كشت درون شيشه اي دورگه بين گونه اي 'HS314'.

همان گونه كه پيش از اين نيز به آن اشاره گرديد يكي از شرايط مهم معرفي يك نژادگان بـه عنـوان پايـه اصلاح شده داشتن قابليت ريشه‌دهي آسان و در نتيجه امكان افزايش انبوه آن به صورت رويشي اسـت. بنـابراين ريشه‌زايي گياهچه‌ها در كشت درون‌شيشه‌اي يكي ديگر از شاخص هاي گزينش هر نژادگان به عنوان پايه رويشي محسوب مي‌شود. در فرايند ريشه‌زايي عوامل ژنتيكي و محيطي بسياري دخيل هسـتند بـه طـوري كـه نتـايج ايـن بررسي نشان داد بين نژادگان‌ها از لحاظ قابليت ريشه‌زايي اخـتلاف معنـي‌دار وجـود دارد. نژادگـان 'HS314' و 'HS302' بالاترين درصد ريشه‌زايي در شرايط كشت درون شيشه و برون شيشـه اي از خـود نشـان دادنـد، در حالي كه 'HS408' (*Prunus armeniaca*× *P. domestica*) و 'HS721' (*P.amygdalus* × *P. cerasifera*)

در مراحل اوليه ريزافزايي به علت قابليت استقرار و نيز پرآوري كم و ريشه دهي بسيار سخت در ادامه آزمايش مورد بررسي قرار نگرفتند. اين دو نژادگان برخلاف داشتن ويژگي هاي بسيار خوب و مقاومت هاي بسيار بالا به تنش هاي محيطي و آفات و بيماري هاي گياهي به دليل اين كه از ريشه زايي كمتري برخوردار بودند به عنوان پايه رويشي نتوانستند انتخاب شوند (۴). با اين حال قابليت ريشه‌زايي يك نژادگان مي تواند از عوامل متعددي نظير شرايط رشدي، سن فيزيولوژيكي نمونه گياهي و شرايط كشت متاثر باشد.

در مورد ريزنمونه‌هاي درون‌شيشه‌اي به نظر مي‌رسد با زيركشت‌هاي[1] مكرر به عمل آمده تا مرحله ريشه‌زايي ريزنمونه‌ها استعداد بهتري براي ريشه‌زايي پيدا مي‌كنند و در مقايسه با ريز قلمه‌هاي اوليه برداشت شده از پايه مادري آسان تر ريشه مي‌دهند. به همين دليل درصد ريشه‌زايي در نمونه‌هاي درون‌شيشه‌اي در نژادگان‌هاي مورد مطالعه بيشتر از درصد ريشه‌زايي از طريق قلمه‌زدن يا خواباندن است. اين موضوع توسط ساير پژوهشگران با عنوان بازجوان سازي[2] گياهچه‌هاي درون شيشه‌اي عنوان گرديده است (۳، ۱۳،۸).

بالا بودن درصد ريشه زايي به روش آغشته نمودن قسمت ته ريزقلمه ها به IBA و سپس كشت در محيط عاري از هورمون توسط ساير پژوهشگران نيز در مورد پايه هاي درختان ميوه هسته دار گزارش شده است (۱۲). به نظر مي‌رسد در روش دوم، تيمار قسمت ته ريز قلمه ها با IBA جهت انگيزش و آغازش ريشه از مريستم ثانويه موجود در ساقه كافي بوده و نحوه ريشه دهي نمونه ها بيشتر به ژنتيك و ميزان ريزوكالين موجود در بافت گياهي بستگي دارد. در مراحل بعدي رشد و توسعه ريشه، نيازي به اكسين و ريزوكالين موجود نداشته و در نتيجه پس از آن به علت عدم وجود هورمون اكسين (كه در مراحل بعدي در واقع حتي يك نوع بازدارنده رشد ريشه محسوب مي گردد) در محيط، ريشه ها رشد بهتري پيدا مي‌كنند (۱۶). در اين خصوص حتي برخي پژوهشگران پس از انگيزش اوليه ريشه‌زايي با تيمار اكسين گياهچه‌ها را در بستر گلدان حاوي مخلوط پيت و پرلايت و يا ورميكولايت كشت مي‌نمايد تا ريشه‌دهي در گلدان انجام گيرد و بدين طريق از تلفات گياهچه‌ها در مرحله انتقال به گلدان كاسته شود. همچنين نتايج نشانگر اين است كه در مرحله ريشه زايي زماني كه هورمون اكسين در محيط وجود دارد زيركشت زود وقت نمونه ها و انتقال نمونه هاي گياهي به محيط عاري از اكسين رشد ريشه ها را بهبود مي بخشد.

منابع REFERENCES

۱. آروين، ج. ۱۳۸۱. كشت بافت درختان چوبي (ترجمه). انتشارات دانشگاه شهيد باهنر كرمان صفحه هاي ٥٦-٨٧.

۲. ايزد پناه، م. ۱۳۸۰. ازديـاد گيلاس وحشي (*Prunus avium*) از طريق كشت درون شيشه اي، پژوهش و سازندگي، ٧٤-٦٨: ٥٢.

۳. دژم پور، ج. و. گريگوريان، ا. مجيدي و ن. علي اصغرزاده. ۱۳۸٦. ارزيابي برخي ويژگي هاي مرفولوژيكي چند دورگه بين گونه اي جنس پرونوس و افزايش همگروهي آن ها. مجله علوم و فنون باغباني ايران،٥٤-٤٣: ۸.

٤. دژم پور، ج. و. گريگوريان، ا. مجيدي و ن. علي اصغرزاده. ۱۳۸٦. گندزدايي، استقرار و پرآوري در كشت درون شيشه اي چند دورگه بين گونه اي جنس پرونوس، مجله علوم و فنون باغباني ايران،١٧٤-١٦٥: ۸.

۱- Subcultures ۲- Rejuvenility

۵. ذوالفقاري نسب، ر. م. خسروشاهي، و. گريگوريان، ع. مطلبي آذر. ۱۳۸۳. بررسي افزايش درون شيشه‌اي دورگه طبيعي زردآلو× گوجه. مجله علوم و فنون باغباني ايران،۹۲-۸۱: ۵.

٦. كمالي، ك. ا. مجيدي و ر. ضرغامي.۱۳۸۰. تعيين مناسب ترين محيط كشت و شرايط رشد جهت ريزافزايي پايه رويشي GF677 (هلو× بادام). نهال و بذر، ۲٤۲-۲۳٤: ۱۷.

7. Ainsley, P., G. Collins, and M. Sedgley. 2001. *In vitro* rooting of almond *(Prunus dulcis* Mill.*)*. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant 37:778-785.
8. Blasco, A. 1982. Seasonal variation on the rooting ability of almond × peach softwood cuttings. Proc. XX Int. Congress Plant Biotechnology. Hamburg. FDR, 1:64-69.
9. Calamar, A. and G. Klerk. 2002. Effect of sucrose on adventitious root regeneration in apple. Plant Cell, Tiss. Org. Cult. 70:207-212.
10. Channuntapipat, C., M. Sedgley and G. Collins. 2003. Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and Ne Plus Ultra and the hybrid rootstocks Titan × Nemagard. Sci. Hort. 98:473-484.
11. Cos, J., D. Frutos, R. Garcia, J. Rodriguez and J. Garcia. 2004. Micropropagation of polliza V4 -Cida selection. Acta. Hort. 658:197-202.
12. Cos, J., D. Frutos, R. Garcia, J. Rodriguez and J. Garcia, 2004. *In vitro* rooting study of the peach-almond hybrid Mayor. Acta Hort. 658:301-306.
13. Dorion, N., L. Regnard, and C. Bigot. 1994. Effect of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and further development of *in vitro* shoot of peach (Armking) and peach×almond hybrid (GF677). Sci. Hort. 57:201-213.
14. Draut, P. and R. Gruselle. 1986. Plum *(Prunus domestica)* In: Bajaj, Y.P.S. (ed). Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol. I: Trees I. Springer Varlag Berlin Heidelberg, 130-154 p.
15. Fotopoulos, S. and T. Sotiropoulos. 2005. *In vitro* rooting of PR204/84 rootstock (*P. amygdalus* × *P. persica*) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. Agron. Res. 3:38-44.
16. Hatchinsum, F. and H. Zimmerman. 1987. Tissue culture of temperate fruit and nut trees. Hort. Rev. 9:37-349.
17. Kester, D.E., R.N. Asay, and T.M. Gradzil. 2002. 'Nickels' almond × peach hybrid clonal rootstock. Hort. Sci. 137:415-417.
18. Martinelli, A. 2005. Factors affecting *in vitro* propagation of the peach–almond hybrids "Hansen 2168" and " Hansen536". Acta. Hort. 173:251-254.
19. Perez, O., J. Egea, E. Olmos, and L. Burgos. 2002. Control of hyperhydricity in micropropagation apricot cultivars. *In vitro* Cell. Dev. Biol. Plant 37:250-254.
20. Reeves, D., G. Couvillon, and B. Horton, 1985. Effects of gibberellic acid (GA_3) on elongation and rooting of 'St. Jolien A' rootstock *in vitro*. Sci. Hort. 26:253-259.
21. Tsipouridis, C. and T. Thomidis. 2003. Methods to improve the *in vitro* culture of GF677 (peach × almond) peach rootstock. New Zealand J. Crop and Hort. Sci. 31:361-364.