Archive of SID

مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۱ شماره ۳ صفحه های ۱۸۷ تا ۱۹۶ (۱۳۸۹)

اثر برخی تنظیم کننده های رشد بر ریزافزایی فندق (*Corylus avellana* L.)[۱]

EFFECTS OF SOME GROWTH REGULATORS ON HAZELNUT (*CORYLUS AVELLANA* L.) MICROPROPAGATION

سید علی قائم مقامی، حسن ابراهیم زاده و سید محمد شتاب بوشهری[۲]

چکیده

در این پژوهش، نیاز هورمونی لازم برای ریزافزایی فندق رقم محلی کرج مورد بررسی قرار گرفت. گندزدایی قطعه های سرشاخه با محلول ۱۰٪ سفیدکننده تجاری (دارای۵٪ سدیم هیپوکلریت) به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. در آزمایش اول اثر غلظت های مختلف از جیبرلیک اسید[۳] (GA_3) (۵ ، ۳ ، ۱ ، ۰/۵ ، ۰/۱ ، ۰ میلی گرم در لیتر) بررسی شد. در آزمایش دوم ریزنمونه ها روی محیط ناس و رید[٤] (NRM) با غلظت های مختلف از چهار سایتوکینین بنزیل آدنین[٥] (BA) (۵ ، ۲/۵ ، ۰)، کینتین[٦] (Kin) (۳/۵ ، ۱/۵ ، ۰)، 2ip (۰، ۲/۵، ۷/۵) وتیدیازرون[۷] (TDZ) (۰، ۰/۰۱، ۰/۰۲۵ میلی گرم در لیتر) و ترکیبی از آن ها کشت شدند. نتایج نشان داد غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA_3 در تعداد و طول شاخه معنی دار بود. وجود یک سایتوکینین در محیط، نسبت به ترکیبی از آن ها برتری داشته به طوری که بهترین پرآوری[۸] شاخه، در غلظت ۵ میلی گرم در لیتر BA به دست آمد. این غلظت موجب کاهش رشد طولی شاخه ها شد. در محیط حاوی 2ip با غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر بیشترین رشد طولی و تعداد برگ حاصل شد. این شاخه ها برای افزایش بعدی به وسیله تک گره و ریشه زائی مناسب بودند. بین محیط کامل NRM و نیم غلظت آن تفاوت معنی داری برای ریشه زائی وجود نداشت. گیاهک های ریشه دار شده در قرص های جیفی[۹] به خوبی مستقر شدند.

واژه های کلیدی: سایتوکینین، فندق، کشت درون شیشه ای.

مقدمه

فندق یکی از مهم ترین محصول های خشکبار در جهان است که به دلیل ارزش غذائی و داروئی اهمیت زیادی دارد. این درخت با نام علمی *Corylus* از تیره Corylacea است (۱۵) و در بیش از ۲۰ کشور جهان از جمله ایران کشت و کار می شود. برای تامین افزایش تقاضای جهانی این محصول، نیاز به افزایش غیرجنسی ارقام تجاری است. روش های متداول افزایش همچون خواباندن وقت گیر، دشوار و کم بازده می باشند (٦) به همین دلیل افزایش درون شیشه ای به عنوان یک سیستم کارآمد پیشنهاد شده است (۳، ۱۱، ۱۲، ۲۰).

تاکنون نقش تنظیم‌کننده‌های رشد در کشت‌بافت فندق در پژوهش‌های مختلف بررسی شده است. آندرسون[۱۰] (۲) بیشترین شاخه را در ترکیب ۲ میلی‌گرم در لیتر BA و ۲-۱ میلی‌گرم 2ip به دست آورد. مسگوئرا و مل[۱۱]

۱- تاریخ دریافت: ۸۸/۸/۱۰ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۵

۲- به ترتیب مربی پژوهشکده کشاورزی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران Ghaem1338@yahoo.com، استاد پردیس علوم دانشگاه تهران و کارشناس ارشد پژوهشکده کشاورزی سازمان پژوهش های علمی و صنعتی ایران، تهران، جمهوری اسلامی ایران.

۳- Gibberellic acid ٤- Nas and Read ٥- Benzyl adenine ٦- Kinetin ۷- Thidiazuron

۸- Proliferation ۹- Giffy-7 ۱۰- Anderson ۱۱- Messeguera and Mele

www.SID.ir

Archive of SID

(٦) یو و رید[1] (٢٠) از سایتوکینین های BA, 2ip ، Kin و Zeatin برای پرآوری و رشد ریز نمونه ها استفاده نمودند. تاثیر BA در تعداد شاخه و 2ip در طول شاخه نسبت به دیگر هورمون ها بیشتر بود. دیاز سالاو همکاران[2] (٤) از سایتوکینین های BA و 2ip در محیط استفاده نمودند. افزایش غلظت BA تا ٥ میلی گرم در لیتر به همراه ٠/٠١ میلی گرمIAA و ٠/١ میلی گرم GA_3 نسبت به استفاده از BA به تنهائی برتری داشت. مقایسه محیط حاوی ترکیب دو سایتوکینین BA و 2ip در غلظت های مختلف و BA به تنهائی در پژوهش یو و رید[3] انجام گرفته است. بیشترین تعداد شاخه در استفاده ازترکیب دو هورمون به میزان ٢ میلی گرم در لیتر به دست آمد (١٩). فتوحی قزوینی ١ میلی گرم در لیتر BA را برای کشت تک گره فندق توصیه نمود. به طوری که در این غلظت هورمونی ٤٥٪ باززایی شاخه مشاهده شد (١).

تاکنون استفاده از چهار سایتوکینین (BA، 2ip، Kin، Zeatin) به تنهائی و ترکیب BA و 2ip در پرآوری فندق بررسی شده است. در مقاله حاضر استفاده از TDZ و ترکیب های دیگر سایتوکینین با حضور جیبرلیک اسید و یک اکسین در افزایش درون شیشه ای این گیاه گزارش می شود.

مواد و روش ها

در این پژوهش در اردیبهشت ماه از سرشاخه های رقم محلی کرج کشت شده در باغ کمال آباد وابسته به موسسه تحقیقاتی اصلاح و تهیه بذر و نهال ریز نمونه تهیه شد. برای گندزدایی، ابتدا برگ ها حذف و شاخه ها به قطعه های کوچکتر تقسیم شدند. نمونه ها ابتدا با آب و چند قطره مایع ظرفشوئی شسته شدند. سپس به مدت ٦٠ دقیقه در زیر آب جاری قرار گرفتند. در ادامه نمونه ها با محلول ١٠٪ سفیدکننده تجاری (دارای ٥٪ سدیم هیپوکلریت[3]) همراه با چند قطره تووین- ٢٠[4] به مدت ١٠ دقیقه گندزدایی و آنگاه سه بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. پس از آن در شرایط سترون قطعه ها با یک گره جدا شده روی محیط NRM (١٠) با ٢/٥ میلی گرم در لیتر BA به مدت ٣ هفته استقرار یافتند سپس ریزنمونه های سالم به تیمارهای آزمایشی منتقل شدند.

در آزمایش اول محیط پایه NRM به همراه ٥ میلی گرم در لیتر BA و ٠/٠١ میلی گرم در لیتر IBA به همراه غلظت های مختلف از هورمون جیبرلیک اسید (GA_3) (٥ ، ٣ ، ١ ، ٠/٥ ، ٠/١، ٠ میلی گرم در لیتر) مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد و طول شاخه در هر ریزنمونه پس از شش هفته یادداشت برداری شد.

در آزمایش دوم محیط کشت پایه NRM دارای تنظیم کننده های ٠/٥ میلی گرم در لیترGA_3 و ٠/٠١ میلی گرم در لیتر IBA در تمامی تیمارها بود و اثر ترکیب هائی از سایتوکینین های BA (٥ ،٢،٠/٥)، Kin (٣/٥، ١/٥ ، ٠)، 2ip (٧/٥، ٢/٥ ، ٠) و TDZ (٠/٠٢٥ ،٠/٠١ ، ٠ میلی گرم در لیتر) (با شاهد ٣٣ تیمار) (جدول ٢) مورد بررسی قرار گرفتند. تعداد و طول شاخه و تعداد برگ در هر ریزنمونه پس از شش هفته یادداشت برداری شدند. میزان ساکارز و آگار در محیط های کشت شده به ترتیب ٣٠ و ٧ گرم در لیتر گرفته شد. pH محیط قبل از قرار دادن در اتوکلاو روی ٥/٧ تنظیم گردید. نمونه های کشت شده در اتاق رشد با نور ٢٥٠٠ لوکس و طول روز ١٦ ساعت در دمای ٢±٢٥ درجه سلسیوس نگهداری شدند. برای ریشه زائی شاخه های برتر پرآوری روی محیط دارای ٢/٥ میلی گرم در لیتر 2ip (تیمار ١٠) منتقل و پس از شش هفته وارد فاز ریشه زائی شدند. در این مرحله انتهای این شاخه ها قطع و روی محیط بدون هورمون NRM یا NRM ١/٢ منتقل شدند. طول و تعداد ریشه در هر شاخه پس از شش هفته یادداشت برداری شدند. شاخه های ریشه دار پس از شستشوی ریشه و حذف آگار

Tween 20 -۴ Sodium hypochlorite -۳ Diaz- Sala *et al.* -۲ Yu and Reed -۱

www.SID.ir

Archive of SID

به بستر خاکی قرص های جیفی خیس شده در محلول یک در هزار کاپتان انتقال یافتند. در این مرحله بـرای حفـظ رطوبت از پوشش های پلاستیکی استفاده و گیاهک ها در طی یک ماه با محیط بیرون سازگار شدند.

آزمایش ها در قالب طرح کاملا تصادفی انجام گرفـت آزمـایش اول و دوم بـا ٦ تکـرار و هـر تکـرار بـا ۳ ریزنمونه و هر آزمایش دو بار تکرار شد. در آزمایش ریشه زائی نیز ۲۰ تکرار برای هر تیمار در نظر گرفتـه شـد. تجزیه آماری داده ها با نرم افزار SAS و مقایسه میانگین ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح ۱٪ یـا ٥٪ صورت پذیرفت.

نتایج

کشت ریزنمونه ها روی محیط استقرار قبل از شروع آزمایش ها سبب تشخیص نمونـه هـای آلـوده شـد (٥٥٪). در پایان ۳ هفته نمونه های سالم برای آزمایش بعدی استفاده شدند.

در آزمایش اول تاثیر تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید بر میانگین تعداد و طول نوشاخه در سـطح ۱٪ معنـی دار شد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین تعداد و طول نوشاخه درغلظت های مختلف GA_3 در ریزنمونه های فندق رقم محلی کرج.

Table 1. Mean comparisons of shoot number and shoot length from a local Karaj cultivar of hazelnut explants in different concentrations of GA_3.

GA_3 (mg l^{-1})	میانگین تعداد شاخه Mean of shoot No.	میانگین طول شاخه (سانتیمتر) Mean of shoot length (cm)
0	2.84c†	1.46b
0.1	3.08ab	1.65a
0.5	3.14a	1.70a
1.0	2.87bc	1.43b
3.0	2.70cd	1.42b
5.0	2.57d	1.37b

† Means with the similar letters are not significantly different at 1% level of probability using DMRT.

† در هر ستون میانگین هائی که دارای حروف مشابهی می باشند، در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول۲ – مقایسه میانگین تعداد و طول شاخه و تعداد برگ در ترکیب های مختلف سایتوکینین در ریزنمونه فندق رقم محلی کرج.

Table 2. Mean comparisons of shoot number, shoot length and leaf number from a local Karaj cultivar of hazelnut explants in different combinations of cytokinin.

شماره تیمار Treatment No.	تیمار (میلی گرم در لیتر) Treatment (mg l^{-1})	میانگین تعداد شاخه Mean of shoot No.	میانگین طول شاخه (سانتیمتر) Mean of shoot length (cm)	میانگین تعداد برگ Mean of leaf No.
1	BA 0 + Kin 0†	1.00k	2.79a-d	7.85a-c
2	BA 0 + Kin 1.5	1.00k	2.71 a-d	8.39a
3	BA 0 + Kin 3.5	1.00k	1.80 d-h	8.15ab
4	BA 2.5 + Kin 0	3.20ab	1.27f-h	5.00d-f
5	BA 2.5 + Kin 1.5	3.08ab	1.05gh	5.97a-f
6	BA 2.5 + Kin 3.5	2.92a-d	1.09gh	5.21c-f
7	BA 5 + Kin 0	3.23a	0.99h	5.51a-f
8	BA 5 + Kin 1.5	2.43a-e	1.17gh	6.50a-f
9	BA 5 + Kin 3.5	2.36a-f	1.35f-h	6.47a-f
10	BA 0 + 2ip 2.5	1.00k	3.81a	8.33ab
11	BA 0 + 2ip 7.5	1.00k	3.03a-c	7.11a-d
12	BA 2.5 + 2ip 2.5	2.06b-i	1.79d-h	6.16a-f
13	BA 2.5 + 2ip 7.5	2.28a-g	1.75d-h	6.37a-f
14	BA 5 + 2ip 2.5	3.05a-c	1.26f-h	5.58a-f
15	BA 5 + 2ip 7.5	2.84a-d	1.56e-h	5.69a-f
16	BA 0 + TDZ 0.01	1.95c-j	1.52f-h	5.48b-f
17	BA 0 + TDZ 0.025	2.12a-h	1.80d-h	5.96a-f
18	BA 2.5 + TDZ 0.01	3.19ab	1.06gh	5.28c-f
19	BA 2.5 +TDZ 0.025	2.52a-e	1.28f-h	6.03a-f
20	BA 5 + TDZ 0.01	3.02a-c	1.00h	4.70d-f
21	BA 5 + TDZ 0.025	2.14a-g	0.99h	5.45b-f
22	Kin 1.5 + 2ip 2.5	1.00k	3.22ab	7.94a-c
23	Kin 1.5 + 2ip 7.5	1.20i-k	2.68a-e	6.68a-e
24	Kin 3.5 + 2ip 2.5	1.20i-k	2.06b-g	5.67a-f
25	Kin 3.5 + 2ip 7.5	1.13j-k	3.21ab	6.51a-f
26	Kin 1.5 + TDZ 0.01	1.90d-j	2.29b-f	5.89a-f
27	Kin 1.5+TDZ 0.025	2.70a-e	1.42f-h	4.42ef
28	Kin 3.5 + TDZ 0.01	1.34g-k	2.23b-f	6.46a-f
29	Kin 3.5+TDZ 0.025	2.42a-f	1.15gh	4.09f
30	2ip 2.5 + TDZ 0.01	1.45f-k	1.89c-h	6.14a-f
31	2ip 2.5 +TDZ 0.025	2.16a-g	1.12gh	4.37ef
32	2ip 7.5 + TDZ 0.01	1.23h-k	2.28b-f	7.42a-d
33	2ip 7.5 +TDZ 0.025	1.68e-k	1.43f-h	5.24c-f

† Means with the similar letters are not significantly different at 1% level of probability using DMRT

† در هر ستون میانگین هائی که دارای حروف مشابهی می باشند، در سطح ۱٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

محیط دارای ۰/۵ میلی گرم در لیتر جیبرلیک اسید بیشترین تعداد شاخه را با میانگین ۳/۱٤ تولید نمود که با ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA_3 تفاوت معنی دار نداشت. افزایش غلظت GA_3 کاهش تعداد شاخه را به همراه داشت به طوری که در تیمار ۵ میلی گرم در لیتر با میانگین ۲/۵۷ کمترین تعداد شاخه به دست آمد. بیشترین میانگین طول شاخه با ۱/۷۰ در تیمار ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA_3 به دست آمد.

در آزمایش دوم تیمارهای هورمونی برای میانگین تعداد و طول شاخه وتعداد برگ در سطح ۱٪ معنی دار شد (جدول ۲). در تیمار ۷ یعنی BA (۵ میلی گرم در لیتر) با میانگین ۳/۲۳ بیشترین تعداد شاخه به دست آمد (شکل ۱–A) و بر عکس در تیمارهای شاهد و Kin (۱/۵ و ۳/۵ میلی گرم در لیتر) و 2ip (۲/۵ و ۷/۵ میلی گرم در لیتر) کمترین تعداد شاخه حاصل شد. در تیمار ۱۰ یعنی 2ip با ۲/۵ میلی گرم در لیتر بیشترین طول شاخه (۳/۸۱ سانتی متر) به دست آمد (شکل ۱–B) و بر عکس تعداد شاخه که BA بیشترین تاثیر را نسبت به دیگر هورمون ها داشت جایگزینی این هورمون در محیط با 2ip و Kin سبب افزایش طول شاخه ها شد.

بیشترین تعداد برگ نیز در تیمار شماره ۲ یعنی Kin به میزان ۱/۵ میلی گرم در لیتر با میانگین ۸/۳۹ به دست آمد، اگر چه این تیمار با تعداد زیادی از تیمار ها از جمله تیمار ۱۰ تفاوت معنی داری نداشت. محیط دارای TDZ با غلظت ۰/۰۲۵ میلی گرم در لیتر در ترکیب با Kin و 2ip کمترین تعداد برگ را تولید نمود.

برای ریشه زایی تفاوت معنی داری بین میانگین ها در هر دو غلظت محیط NRM برای طول و تعداد ریشه وجود نداشت و میانگین تعداد ریشه ۳/٦ و ٤/۱ و میانگین طول ریشه ۳/۳ و ۳/۸ سانتی‌متر حاصل شد (جدول۳). گیاهک های ریشه دار به خوبی در بستر خاکی جیفی مستقر شدند (۸۵٪) و پس از یک ماه به مرور با شرایط طبیعی سازگار گردیدند (شکل ۱–C –D).

جدول۳ – مقایسه میانگین تعداد و طول ریشه در گیاهک های فندق رقم محلی کرج.

Table 3. Mean comparisons of root number and root length from a local Karaj cultivar of hazelnut plantlets.

Treatment (Medium)	درصد ریشه زائی Rooting percentage (%)	میانگین طول ریشه (سانتیمتر) Mean of root length (cm)	میانگین تعداد ریشه Mean of root no.
NRM	80.50a†	3.3a	3.6a
1/2 NRM	83.00a	3.8a	4.1a

† Means with the similar letters are not significantly different at 5% level of probability using DMRT

† در هر ستون میانگین هائی که دارای حروف مشابهی می باشند، در سطح ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی داری با هم ندارند.

www.SID.ir

Archive of SID

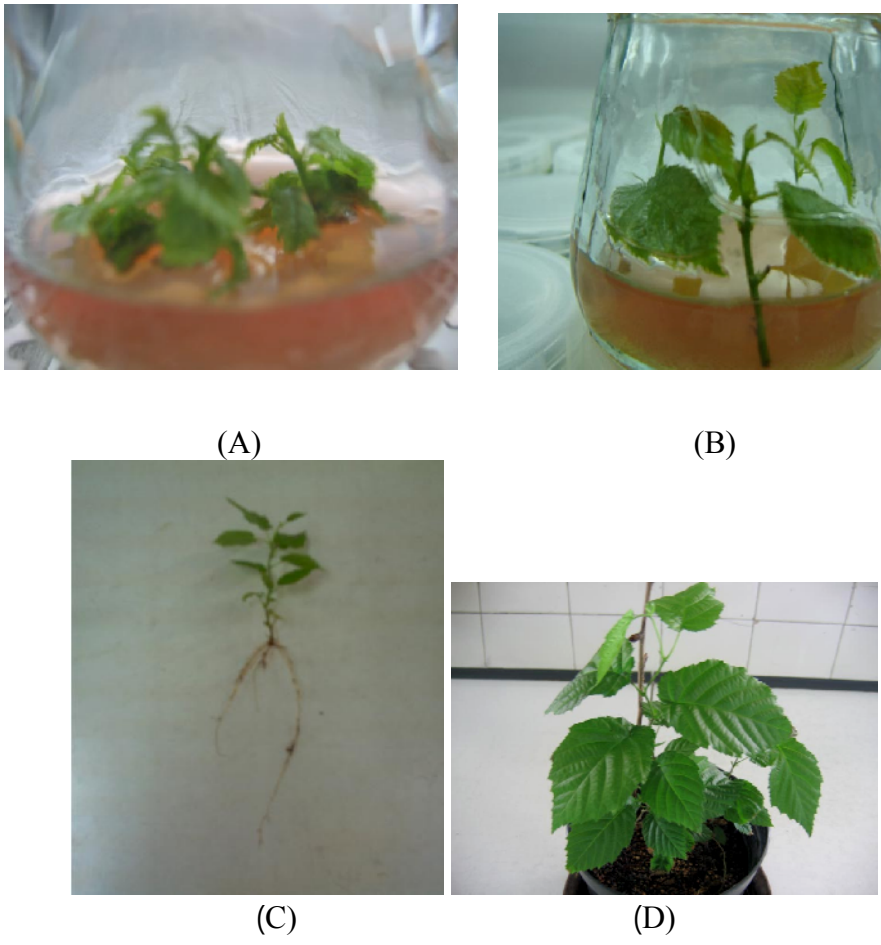

Fig. 1. (A) Shoot proliferation on NRM medium containing 5 mg l^{-1} BA; (B) Shoot length growth on NRM medium containing 2.5 mg l^{-1} 2ip; (C) *In vitro* rooted plantlet and (D) Acclimatized hazelnut to natural conditions.

شکل ۱- (A) شاخه های تولید شده روی محیط NRM با ۵ میلی گرم در لیتر BA، (B) رشد طولی شاخه در محیط NRM با ۲/۵ میلی گرم در لیتر 2ip، (C) گیاهک ریشه دار شده در شرایط درون شیشه ای، (D) گیاه سازگار شده با شرایط معمولی.

بحث

آلودگی ها از عوامل مشکل زا در کشت بافت درختان می باشد. سن، شرایط فیزیولوژیکی و فصل برداشت ریزنمونه از عوامل تعیین کننده در این زمینه می باشد. در بیشتر گزارش ها برای کشت بافت فندق از سفید کننده تجاری با غلظت و زمان های متفاوت استفاده شده که نتایج مختلفی از ۳۰ تا ۹۰٪ آلودگی را در پی داشته است (۳، ٦، ۱۲، ۱۹، ۲۰) در این پژوهش نیز بر خلاف نمونه گیری در فصل مناسب از سرشاخه در حال رشد شاهد ۵۵٪ آلودگی وجود داشت.

www.SID.ir

Archive of SID

در آزمایش اول استفاده از ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA_3 بر میانگین تعداد شاخه و طول شاخه تاثیر معنی دار داشت. این نتیجه مطابق با گزارش دیاز- سالا و همکاران (٤) است که GA_3 را به همراه تنظیم‌کننده های رشد BA و IAA در محیط کشت استفاده کردند.

در آزمایش دوم تاثیر سایتوکینین های مختلف و ترکیب آن ها روی تعداد و طول شاخه و تعداد برگ در محیط NRM (۱۰) بررسی شد. در این محیط با استفاده از BA به تنهایی به ترتیب در غلظت های ۵ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر بیشترین تعداد شاخه تولید شد. چنین مشاهده ای را گزارش های دیگران با محیط های MS ، DKW WPM و K تایید کرده است (٦، ۹، ۱۲، ۱۹). در این بررسی ها میزان مورد استفاده از BA برای پرآوری در دامنه ای از غلظت ۵-۱/۵ میلی گرم در لیتر اشاره شده است و غلظت بالاتر سبب تشکیل پینه و رشد غیر طبیعی شاخه ها می شود (۱۲). استفاده از BA به تنهایی در محیط کشت موجب پرآوری شاخه ها شد و این افزایش شاخه زایی با کوتاه شدن طول شاخه همراه بود که ممکن است به دلیل رقابت بین شاخه ها در جذب مواد غذایی از محیط کشت باشد. این حالت را محیط دارای 2ip با کمترین پرآوری شاخه و بیشترین طول آن ها تائید می نماید. برخی پژوهشگران تاثیر معنی دار ترکیب دو سایتوکینین را در باززایی شاخه اکالیپتوس و زغال اخته گزارش نموده اند (۵، ١٤). در سیب بیشترین پرآوری در ترکیب ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA و ۱/۵ میلی گرم در لیتر Kin به دست آمد. با افزایش BA و کاهش Kin پرآوری کاهش یافت (۷). بر عکس در این پژوهش در ترکیب BA و Kin با افزایش غلظت BA تا ۵ میلی گرم و کاهش غلظت Kin افزایش پرآوری مشاهده شد (جدول ۲). شاخه های بیشتر و با کیفیت بهتر انگور در محیطی با دو سایتوکینین BA و TDZ نسبت به یک سایتوکینین به دست آمد (۱۷). در این آزمایش کیفیت بهتر شاخه در محیط دارای 2ip به تنهایی مشاهده شد و ترکیب BA و TDZسبب کوتاهی شاخه ها شد. در فندق بیشترین تعداد شاخه از ترکیب BA و 2ip به دست آمد (۲، ۱۹). اما در این پژوهش افزون بر ترکیب هورمونی BA و 2ip، استفاده هم زمان از تنظیم کننده های BA و TDZ و یا BA و Kin نیز تاثیر مشابه داشتند، ولی نسبت به استفاده از BA به تنهایی برتری نشان ندادند. موفقیت یک کشت درون شیشه ای به دلیل اختلاف رقم ها در جذب، انتقال و متابولیسم سایتوکینین های مختلف و یا غلظت آن ها تحت تاثیر قرار می گیرد (۱۸).

شاخه های ریزافزائی شده اغلب طویل نمی شود. این حالت به ویژه زمانی دیده می شود که ریزنمونه ها از درختان بالغ گرفته شوند. طویل شدن ساقه اغلب یک پیش نیاز برای ریشه دار شدن شاخه است. در آزمایش دوم تنظیم کننده رشد 2ip در افزایش طول شاخه تاثیر داشت و در غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر بیشترین طول شاخه مشاهده شد. این نتیجه با نتایج به دست آمده در گزارش مسگوئرا و مل (٦) مشابه بود. شاخه های رشد کرده در این محیط برای تکثیر بعدی به وسیله تک گره خیلی مناسب و برگ ها از کیفیت خوبی برخوردار بودند. همچنین انتقال نمونه از مرحله پرآوری به روی این محیط و سپس ریشه زائی آن ها نتیجه خوبی داشت. این روش در گیاهان دیگر نیز گزارش شده است. در سیب جایگزینی 2ip یا Kin با BA موجب افزایش طول شاخه ها شد (١٦). در آزالیا توده شاخه های کوچک ایجاد شده روی محیط TDZ برای طویل شدن روی محیط دارای 2ip منتقل شدند. بعد از ۱/۵ تا ۲ ماه شاخه های بلند که قابل ریشه زائی بودند به دست آمدند (۱۳). تغییر نوع تنظیم کننده رشد برای طویل شدن شاخه ها در کنار روش دیگر مانند افزودن پلی آمین ها به محیط کشت قابل توصیه است (۸).

در گزارش های پیشین برای ریشه زایی از محیط ۱/۲K و ۱/۲WPM و ۱/۲MS به همراه IBA استفاده شد و با توجه به رقم کشت شده و شرایط محیطی از ۵۰ تا ۱۰۰٪ موفقیت به دست آمد (٤، ۱۲، ۲۰). در

www.SID.ir

Archive of SID

این پژوهش در دو محیط NRM و محیط نیم غلظت NRM تفاوت معنی داری مشاهده نشد. ریشه ها در این محیط ها به دلیل استفاده نکردن از هورمون، باریک و بلند بودند. تفاوت های ژنتیکی ارقام مورد استفاده، وجود مقادیر کم و یا حذف هورمون ریشه زایی از محیط، دلیل اختلاف در استقرار گیاهک ها می تواند باشد.

نتیجه گیری

تا کنون گروه های مختلفی از تنظیم کننده های رشد شناسایی شده است. هیچ کدام از این گروه ها به تنهایی روی یک مرحله فیزیولوژیکی اثر ندارند، بلکه برعکس، هر مرحله از رشد به وسیله برهمکنش دو یا چند تنظیم کننده کنترل می شود. در این پژوهش تاثیر جیبرلیک اسید و سایتوکینین های مختلف به شکل واحد یا دو به دو برای به دست آوردن بیشترین تعداد شاخه و رشد طولی آن ها در ریزنمونه های حاصل از درخت بالغ فندق بررسی شد. نتایج نقش مثبت GA_3 درترکیب هورمونی را نشان می دهد. هورمون BA تاثیر معنی داری در تعداد شاخه دارد و سایتوکینین های 2ip و Kin تولید شاخه را تحریک نمی کند. برای طول شاخه و تعداد برگ، سایتوکینین 2ip بیشترین تاثیر را داشت و به نظر می رسد پس از پرآوری شاخه ها در محیط BA واکشت آن ها روی محیط دارای 2ip باعث کیفیت بیشتر شاخه ها و اندازه بهتر برگ قبل از ریشه زایی و انتقال به خاک خواهد شد.

منابع REFERENCES

۱. فتوحی قزوینی، ر. ۱۳۸۲ اندام زایی مستقیم درون شیشه ای از شاخساره تک جوانه فندق، خلاصه مقاله سومین کنگره علوم باغبانی ایران، صفحه ۱۳۷.

2. Anderson, W.C. 1984. Micropropagation of filbert, *Corylus avellana* L. Proc. Int. Plant Prop. Soc. 33:132-137.
3. Bassil, N. and B.J. Rebhuhn. 1991. Micropropagation of the hazelnut, *Corylus avellana* L. Acta Hort. 300:137-140.
4. Diaz- Sala, C., M. Rey and R. Rodriguez. 1990. *In vitro* establishment of a cycloclonal chain from nodal segments and apical buds of adult hazelnut (*Corylus avellana* L.) Plant Cell Tiss. Org. Cult. 23:151-157.
5. Mamaghani, M.S., M.H. Assareh, M. Omidi, M. Matinizadeh, A. Ghamari-Zare, S. Shahrzad and M. Forootan. 2009. The effect of thidiazuron level on *in vitro* regeneration type and peroxidase profile in *Eucalyptus microtheca* F. muell. Plant Growth Regul. 59:199-205.
6. Messeguer, J. and E. Mele. 1987. *In vitro* propagation of adult material and seedlings of *Corylus avellana*. Acta Hortic. 212:499-503.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Modgil, M., D.R. Sharma and S.V. Bhadwaj. 1999. Micropropagation of apple cv. Tydeman's Early Worcester. Sci. Hort. 81:179-188.
8. Nas, M.N. 2004. Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut (*Coryus avellana* L.) micropropagation. Turk J. Agric. For. 28:189-194.
9. Nas, M.N. and P.E. Read. 2001. Micropropagation of hybrid hazelnut: medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. Acta Hort. 556:251-257.
10. Nas, M.N. and P.E. Read. 2004. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagtion of hazelnuts. Sci. Hort. 101:189-200.
11. Nas, M.N. and P.E. Read. 2004. Improved rooting and acclimatization of micropropagated hazelnut shoots. HortScience 39:1688-1690.
12. Perez, C., A. Rodriguez, A. Revilla, R. Rodriguez and R. Sanchez -Tames. 1987. Filbert plantlet formation through *in vitro* Culture. Acta Hort. 212:505-510.
13. Preece, J.E. and R.I. Miles. 1991. Plant regeneration from leaf explants of *Rhododendron* 'P.J.M. Hybrids'. Sci. Hort. 48:159-170.
14. Qu, L., J. Polashock and N. Vorsa. 2000. A highly efficient *in vitro* cranberry regeneration system using leaf explants. HortScience. 35:948-952.
15. Rodriguez, R., B. Berros, M.L. Centeno, M. Rovira, A. Rodriguez and L. Radojevic. 2000. Applied and basic studies on somatic embryogenesis in hazelnut (*Corylus avellana* L.) In: Jain, S.M., P.K. Gupta and R.J. Newton (eds.) Somatic Embryogenesis in Woody Plants V. 6. Kluwer Academic Pub. 291-359 p.
16. Sriskandarajah, S., R.M. Skirvin, H.Abu-Qaoud and S.S. Korban. 1990. Factors involved in shoot elongation and growth of adventitious and axillary shoots of three apple scion cultivars *in vitro*. J. Hort. Sci. 65:113-121.
17. Sudasono, V. and R.G. Goldy. 1991. Growth regulator and axillary bud position effects on *in vitro* establishment of *Vitis rotundifolia*. HortScience 26:304-307.
18. Van Staden, J., E. Zazimalova and E.F. George, 2008. Plant growth regulators cytokinins their analogues and antagonists. In: George, E.F., M.A. Hall and G.J. De Klerk (eds.) Plant Propagation by Tissue Culture, 3rd ed., Springer, Dordecht, 205-226.

www.SID.ir

Archive of SID

19. Yu, X. and B.M. Reed. 1993. Improved shoot multiplication of mature hazelnut (*Corylus avellana*) *in vitro* using glucose as a carbon source. Plant Cell Rep. 12:256-259.
20. Yu, X. and B.M. Reed. 1995. A micropropagtion system for hazelnuts (*Corylus* species). HortScience. 30:120-123.

www.SID.ir

Archive of SID

EFFECTS OF SOME GROWTH REGULATORS ON HAZELNUT (*CORYLUS AVELLANA* L.) MICROPROPAGATION

S.A. GHAEM MAGHAMI, H. EBRAHIMZADEH AND S.M. SHETAB BOSHEHRI[1]

Hormonal requirements for micropropagation of a local Karaj cultivar of hazelnut were studied. Shoot tips were surface-sterilized with 10% commercial bleach (5% sodium hypochlorite) for 10 min. Two experiments were conducted. In the first one, the effects of different concentrations of GA_3 (0, 0.1, 0.5, 1.0, 3.0 and 5.0 mg l^{-1}) were investigated. In the second experiment, explants were cultured on NRM medium with four cytokinins including BA (0, 2.5, 5 mg l^{-1}), Kin (0, 1.5, 3.5 mg l^{-1}), 2ip (0, 2.5, 7.5 mg l^{-1}), TDZ (0, 0.01, .025 mg l^{-1}) and their combinations. The mean length and number of shoots were significant on media containing 0.5 mg l^{-1} GA_3. The highest proliferation rate was observed with 5 mg l^{-1} BA, however, in this concentration the shoot length decreased. The longest shoots and leaf number were obtained on medium supplemented with 2.5 mg l^{-1} 2ip. These shoots were much more vigorous and it was possible to propagate them by single node. For rooting number significant differences were found between NRM and half-strength media. The plantlets were successfully acclimatized in jiffy-7.

Keywords: Cytokinin, Hazelnut, *In vitro* culture.

1. Instructor (Ghaem1338@yahoo.com), Agricultural Institute, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Professor, Faculty of Science, Tehran University, and Researcher at IROST, Tehran I.R. Iran, respectively.

www.SID.ir