دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۵، شماره ۲، صفحه ۳۴۷-۳۳۷ (۱۳۹۶)

تأثیر گونه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی سه گونه زالزالک (*Crataegus* spp)

نوربخش تیموری[۱]، دانیال کهریزی[۲*]، وحید عبدوسی[۳] و عبدالحمید پاپزن[۴]

۱- گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲*- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، پست الکترونیک: dkahrizi@yahoo.com

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۴- دانشیار، گروه ترویج و آموزش کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۰۹

چکیده

زالزالک (*Crataegus*spp) یکی از جنس‌های جنگلی مهم در ایران است. سازگاری بالایی به خشکی و سرما داشته و به‌عنوان پایه برای به، گلابی و سیب کارایی دارد. این تحقیق به‌منظور ارزیابی شاخه‌زایی و ریشه‌زایی سه گونه زالزالک به‌نام‌های *C. aronia*، *C. pseudohetrophylla* و *C. meyeri* انجام شد. برای این منظور از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد و ریزنمونه تک‌گره حاوی جوانه جانبی استفاده شد. ریزنمونه در غلظت‌های مختلف BAP به‌علاوه NAA در محیط MS کشت شد. میانگین‌ها پس از ۶ هفته نشان داد که حداکثر تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP (۴/۳۳ شاخه)، بیشترین درصد ریزنمونه رشدکرده (۸۹/۶۷ درصد) در گونه *C. aronia* و بیشترین طول شاخه (۲۲/۶۷ میلی‌متر) در گونه *C. meyeri* و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌دست آمد. برای ریشه‌زایی از محیط کشت MS، ۱/۲MS و پشم سنگ با ریزنمونه‌های پرآوری شده حاصل از پاجوش و شاخساره‌های پرآوری شده در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. ریزنمونه‌ها در ۱۶ تیمار مختلف در محیط کشتMS، ۱/۲MS و پشم سنگ کشت شد. در هیچ‌یک از گونه‌ها، تیمارها و محیط‌های کشت ریشه‌زایی مشاهده نشد. بیشترین طول شاخه در گونه *C. meyeri* و بیشترین تعداد شاخه در گونه *C. aronia* وجود داشت و هیچ‌یک از تیمارها، گونه‌ها و محیط‌های کشت ریشه‌زایی مناسبی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: زالزالک، پرآوری، ریشه‌زایی، تنظیم‌کننده رشدگیاهی

مقدمه

زالزالک (*Crataegus* spp.) درختان یا درختچه‌هایی خزان‌کننده متعلق به خانواده Rosaceae است. جنس کراتاگوس دارای ۲۰۰ گونه در سراسر جهان می‌باشد (Donmez, 2004). این جنس در ایران دارای ۲۲ گونه و ۵ تیره است (Arjmandi *et al.*, 2009). زالزالک سازگاری بالایی به خشکی و سرما داشته و به‌عنوان پایه برای به، گلابی و سیب کاربرد داشته و از نظر خواص دارویی و ارزش صادراتی اهمیت دارد (Nas *et al.*, 2012). زالزالک‌ها به‌طور عموم از طریق بذر تکثیر می‌شوند؛ ولی به‌دلیل داشتن میوه پارتنوکارپیک (تشکیل و رشد میوه بدون تلقیح تخمک‌ها) و یا گسترش آندوکارپ

Archive of SID

www.SID.ir

بدون لقاح بذر واقعی، جوانه‌زنی بذر آنها مشکل است (Bujarska-Borkowska, 2002). بیشتر بذرهای جنس زالزالک دارای خواب دوگانه بوده یعنی علاوه بر وقوع خواب فیزیکی (مقاومت مکانیکی پوسته) دارای خواب جنین نیز می‌باشند و جوانه‌زنی آنها ممکن است ۳-۲ سال زمان نیاز داشته باشد. بذر زالزالک از نظر رفتار انبارمانی ارتودکس می‌باشد (ISTA,2008).

استفاده از روش‌های مرسوم باغبانی با مشکلاتی از قبیل کند جوانه‌زدن و درصد پایین جوانه‌زدن بذرها و ریشه‌زایی بسیار کم در قلمه‌ها همراه می‌باشد (Maharik et al., 2009). هدف این پژوهش رسیدن به دستورالعمل مناسب برای شاخه‌زایی و ریشه زایی این گونه‌ها، در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای می‌باشد. مطالعات متعددی در رابطه با ریزازدیادی جنس Crataegus انجام شده است. در C. azarolus بیشترین میزان پرآوری ۴ هفته پس از کشت در محیط MS، (Murashige and Skoog,1962) تهیه شده با ۰/۵ میکرومول بر لیتر IBA +۵ میکرومول بر لیتر Benzyladenin-6، (BA) به‌دست آمد (Marwanetal.,2008). در محیط کشت Lepoivre، (LP) با غلظت ۱/۸ میکرومول بر لیتر IBA و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر benzylaminopurine (BAP) بیشترین میزان شاخساره جانبی در *C. azarolus* توسط Caboni و همکاران (2010) به‌دست آمد. در ۴ نوع محیط کشت MS، Woody plant medium، (WPM)، Driver and kuniyuki walnut medium، (DKW) و Nas and read medium (NRM) شامل ترکیبات ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین میزان تولید شاخه در محیط MS در سرشاخه‌های *Crataegus aronia* توسط Nas و همکاران (2012) گزارش شده است. درصد ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های *Crataegus* sp ناچیز بوده و به‌نظر می‌رسد که در ریزازدیادی زالزالک از درختان رشد کرده بدون پیش‌تیمار محدودیت وجود دارد (Gokbunar, 2007). در *Crataegus japan L.* بیشترین درصد ریشه‌زایی با افزودن ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA توسط Al-Aubaidi (۲۰۱۱) به‌دست آمد. در *C. aronia* ریشه‌زایی کمتر از ۱۰ درصد توسط Mehmet و همکاران (2012) به‌دست آمد. در *C. aronia* پس از دو سال واکشت کردن گیاهچه‌ها ریشه‌زایی حاصل شد (Nas *et al.*, 2012). بیشترین درصد ریشه‌زایی در *C. pseudoheterophylla Pojark* در محیط ۱/۲MS با یک هفته قرارگیری در تاریکی در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۴۰ میلی‌گرم در لیتر phloroglusinol(PG) وجود داشت (Ahmadloo *et al.*,2014).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه شرکت ایده‌سازان زیستی زاگرس واقع در مرکز رشد واحدهای فناوری دانشگاه رازی از سال ۹۲ تا ۹۴ انجام شد. برای تهیه ریزنمونه، شاخه گونه‌های *C. spseudohetrophylla*، *C. aronia* و *C. meyeri* از کوه‌های شهرستان صحنه استان کرمانشاه جمع‌آوری و به منظور حذف آلودگی‌های سطحی به‌مدت ۳۰ دقیقه در جریان آب شهری شسته شد و بعد به‌مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد قرار داده و دو بار با آب دی‌یونیزه سترون شستشو شد. ریزنمونه‌های تک جوانه‌ای در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به‌مدت ۲۰ دقیقه و سه بار شستشو با آب دی‌یونیزه شده سترون و قارچ‌کش بنومیل (۲ در هزار) به‌مدت ۲ ساعت و سه بار شستشو با آب دی‌یونیزه شده سترون در زیر لامینار ایرفلو غوطه‌ور شدند. انتهای قهوه‌ای قاعده ریزنمونه و زوائد جانبی شاخه حذف و کشت در محیط MS حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار با تنظیم‌کننده رشد BAP در غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر همراه با ۳ غلظت ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA انجام شد. کشت‌ها در اتاقک رشد در شرایط ۱۶ ساعت نور فلورسنت سرد و ۸ ساعت تاریکی در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و دو هفته یکبار نمونه‌ها زیرکشت -

Archive of SID

www.SID.ir

برده شدند. در آزمایش اول پس از ۶ هفته طول شاخساره، درصد ریزنمونه‌هایی که تولید شاخساره کردند (درصد ریزنمونه‌های رشد کرده) و تعداد شاخساره بررسی شد. در آزمایش دوم به‌منظور ریشه‌زایی، ریزنمونه شاخساره‌های پرآوری شده حاصل از جوانه و پاجوش به‌طول ۱/۵ تا ۲/۵ سانتی‌متر بر روی محیط کشت MS و ۱/۲MS حاوی ۰/۸ درصد آگار، ۵/۷ =pH و ۳ درصد ساکارز بررسی شد. در روش طولانی‌مدت ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، به‌مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق و ۲ غلظت ۰/۱ mg/l IBA و ۱mg/l IBA بعلاوه ۰/۱ mg/l BAP در دو محیط کشت MS و ۱/۲MS نگهداری شد. سپس ریزنمونه‌ها روی همان محیط کشت به دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی منتقل و به‌مدت ۲ ماه بدون واکشت نگهداری شدند. در تیمار کوتاه‌مدت ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، به‌مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق و ۳ غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ mg/l IBA در دو محیط کشت MS و ۱/۲MS نگهداری شدند. پس از ۱۰ روز ریزنمونه‌ها به محیط فاقد تنظیم‌کننده رشد انتقال و در شرایط نوری (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) به‌مدت ۲ ماه بدون واکشت نگهداری شدند. همین‌طور ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، در ۳ غلظت ۱، ۲ و ۳ mg/l IAA (پس از فیلتر کردن) و ۳ غلظت ۵، ۱۰ و ۱۵ mg/l IBA به‌مدت ۲ ماه بدون واکشت در شرایط نوری ۱۶/۸ نگهداری و پس از ۲ ماه به محیط بدون هورمون منتقل شدند. همچنین ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، در ۳ غلظت ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/l PG بعلاوه ۱ mg/l IBA به‌مدت یک هفته در تاریکی مطلق نگهداری و بعد به شرایط نوری ۱۶/۸ منتقل شد. به‌علاوه اینکه برای ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها از ۲ سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوژنز ATCC , GMI9534 با استفاده از پشم سنگ و تزریق باکتری به بستر پشم سنگ، تزریق باکتری و عصاره باکتری (پس از استریل با فیلتر) به محیط کشت MS و ۱/۲ MS استفاده شد، سپس ریزنمونه‌ها در شرایط نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شد. آزمایش اول به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۶ ریزنمونه اجرا شد. مقایسه میانگین داده‌ها به‌روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد و برای انجام تجزیه آماری از نرم‌افزار SAS استفاده شد.

نتایج

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص‌های رشد درون-شیشه‌ای سه گونه زالزالک (آزمایش اول)

تمامی صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمار غلظت تنظیم‌کننده رشد و گونه قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری را در تجزیه واریانس نشان دادند (جدول۱). حداکثر تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP در گونه *C. aronia* به تعداد ۴/۳۳ شاخه به‌دست آمد (شکل۱). بیشترین درصد ریزنمونه رشدکرده به‌میزان (۸۹/۶۷ درصد) در گونه *C. aronia* وجود داشت، در ۲ گونه *C. aronia* و *C. meyeri* با افزایش غلظت BAP درصد ریزنمونه رشد یافته افزایش و در هر ۳ گونه با افزایش غلظت NAA درصد ریزنمونه رشدکرده کاهش یافت (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخساره به میزان ۴ شاخساره در گونه *C. aronia* مشاهده شد، در ۲ گونه *C. aronia* و *C. meyeri* با افزایش غلظت BAP تعداد شاخساره افزایش یافت (جدول۳). بین گونه‌های مختلف و تیمار-های مختلف هورمونی از نظر طول شاخساره به‌وجود آمده در سطح ۱ درصد اثرات معنی‌داری وجود داشت (جدول۱). در هر ۳ گونه مناسبترین غلظت تنظیم‌کننده رشد به منظور افزایش طول شاخساره تیمار هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود و بیشترین طول شاخساره به‌میزان ۲۲/۶۷ میلی‌متر در گونه *C. meyeri* در همین تیمار هورمونی بود (جدول ۴). در مجموع از نظر شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده گونه *C.*

Archive of SID

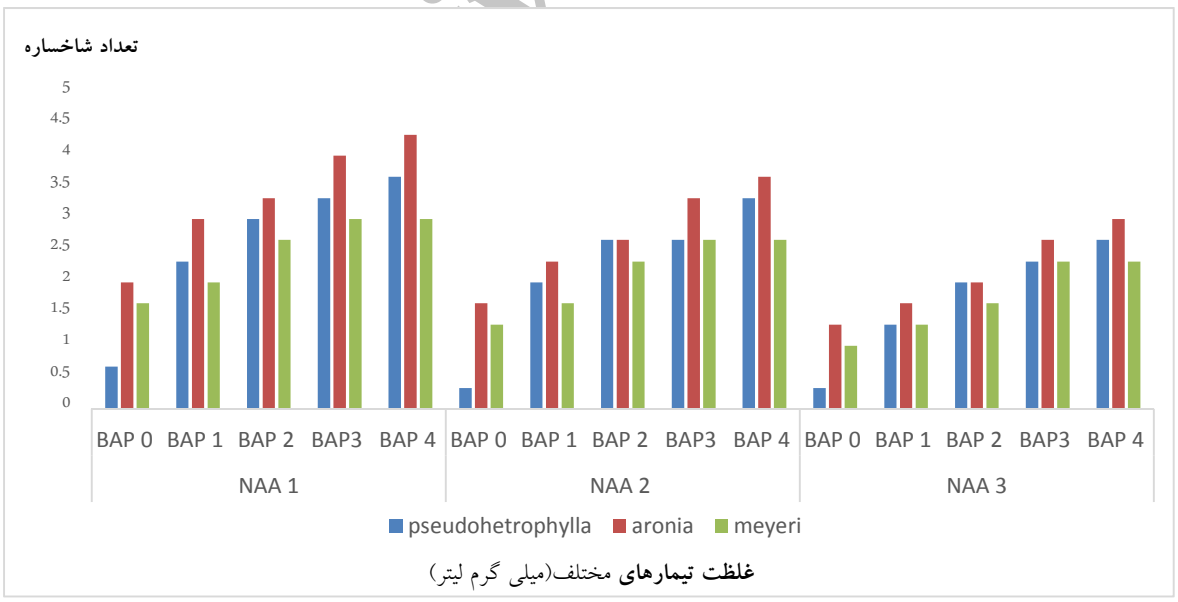
www.SID.ir

meyeri نسبت به دو گونه دیگر برتری داشت. بهترین غلظت BAP برای رشد شاخساره غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. به‌طوری‌که با افزایش غلظت NAA تعداد شاخساره کاهش و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA غلظت بهینه برای افزایش طول شاخساره بود. با افزایش غلظت BAP و NAA طول شاخساره کاهش یافته و با افزایش غلظت BAP و کاهش غلظت NAA تعداد شاخساره افزایش یافت. برای هر ۳ گونه زالزالک غلظت بهینه تنظیم‌کننده رشد ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود.

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تنظیم‌کننده رشد بر روی صفات مختلف سه گونه زالزالک (***C.aronia, C.pseudohetrophylla, C.meyeri***)

منابع تغییر	DF	درصد ریزنمونه رشد کرده	تعداد شاخساره	طول شاخساره
گونه‌های مختلف زالزالک (A)	۲	۲۹۷۷۸/۵۵**	۵/۲۵**	۷۷۲/۳۵ **
غلظت‌های مختلف تیمارها (B)	۱٤	٦۱۳/۲٤**	٦/۵٦ **	۱۱۱/۰٤ **
اثر متقابل A × B	۲۸	٦۲/٤۳ ns	۰/۲۸ ns	۱٤/۰٦ns
خطای آزمایش	۹۰	۲۰۷/۵۵	۰/ ٦٤	۱۲/۹۱
ضریب تغییرات (٪)	–	۲۰/۸۱	۱٤/۲۹	۲۷/۷۱

ns، * و **: به‌ترتیب بی‌معنی و معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪



شکل ۱- اثر غلظت تیمارهای مختلف بر تعداد شاخساره زالزالک

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده رشد بر درصد ریزنمونه رشد یافته سه گونه زالزالک (*C.aronia, C.pseudohetrophylla, C.meyeri*)

تیمار / گونه	*C.pseudohetrophylla*	*C.aronia*	*C.meyeri*
BAP۱+NAA۱	۲۱/۶۷ cde	۷۰/۰ bcd	۳۹/۶۷ bc
BAP۲+NAA۱	۳۶/۸۳ a	۸۱/۳۴ ab	۴۳/۶۷ abc
BAP۳+NAA۱	۳۱/۰۰ab	۸۹/۶۷ a	۴۹/۳۳ a
BAP۱+NAA۲	۱۸/۰۰ cde	۶۷/۰ ce	۳۷/۶۷ bcd
BAP۲+NAA۲	۳۲/۰۰ ab	۷۸/۳۳ abc	۴۰/۶۷ bc
BAP۳+NAA۲	۲۷/۶۷ bc	۸۷/۰۰ ab	۴۶/۰۰ ab
BAP۱+NAA۳	۱۵/۳۳ ef	۶۳/۰ def	۳۳/۶۷ cd
BAP۲+NAA۳	۲۸/۰۰ bc	۷۴/۰۰ abcd	۳۸/۶۷ bcd
BAP۳+NAA۳	۲۴/۶۷ bcd	۸۴/۳۳ ab	۴۳/۳۳ abc

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده رشد بر تعداد شاخساره سه گونه زالزالک (*C.aronia, C.pseudohetrophylla, C.meyeri*)

تیمار / گونه	***C.pseudohytrophylla***	***C.aronia***	***C.meyeri***
BAP۱+NAA۱	۲/۳۳ cd	۳/۰۰ bcd	۲/۰۰ cde
BAP۲+NAA۱	۳/۰۰ ab	۳/۳۳ bc	۲/۶۷ bc
BAP۳+NAA۱	۳/۳۳ a	۴/۰۰ a	۳/۰۰ abc
BAP۱+NAA۲	۲/۰۰ cde	۲/۳۳ cd	۱/۶۷ cf
BAP۲+NAA۲	۲/۶۷ bc	۲/۶۷ bc	۲/۳۳ bcd
BAP۳+NAA۲	۲/۶۷ bc	۳/۳۳ b	۲/۶۷ bc
BAP۱+NAA۳	۱/۳۳ de	۱/۶۷ de	۱/۳۳ cf
BAP۲+NAA۳	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde	۱/۶۷ cf
BAP۳+NAA۳	۲/۳۳ cd	۲/۶۷ cd	۲/۳۳ bcd

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

Archive of SID

www.SID.ir

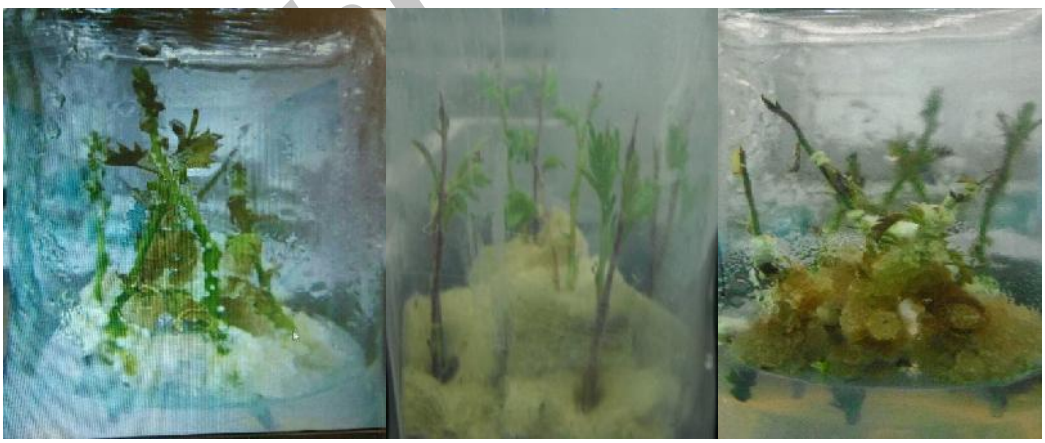
جدول۴- مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده رشد بر طول شاخساره سه گونه زالزالک(*C.aronia, C.pseudohetrophylla, C.meyeri*)

تیمار / گونه	*C.pseudohetrophylla*	*C.aronia*	*C.meyeri*
BAP۱+NAA۱	۲۰/۶۷ a	۱۵/۰۰ a	۲۲/۶۷ a
BAP۲+NAA۱	۱۷/۶۷ bcd	۸/۶۷ d	۱۶/۳۳ cd
BAP۳+NAA۱	۱۲/۶۷ e	۷/۰۰ def	۱۰/۰۰ de
BAP۱+NAA۲	۱۹/۰۰ ab	۱۴/۳۳ ab	۲۲/۰۰ ab
BAP۲+NAA۲	۱۶/۰۰ cd	۸/۰۰ de	۱۵/۶۷ cd
BAP۳+NAA۲	۱۲/۰۰ ef	۶/۳۳ ef	۹/۳۳ de
BAP۱+NAA۳	۱۸/۳۳ bc	۱۳/۶۷ bc	۲۱/۳۳ abc
BAP۲+NAA۳	۱۵/۳۳ cde	۷/۳۳ def	۱۵/۰۰ cd
BAP۳+NAA۳	۱۱/۳۳ ef	۵/۶۷ ef	۸/۶۷ de

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

تأثیر تیمارهای هورمونی بر ریشه‌زایی ۳ گونه زالزالک (*C. pseudohetrophylla,C. aronia,C. meyeri*)

در هیچ‌یک از تیمارهای هورمونی و گونه‌ها ریشه‌زایی وجود نداشت، از این‌رو از تجزیه‌وتحلیل داده‌های مربوط به ریشه‌زایی هر سه گونه زالزالک به‌دلیل نداشتن هیچ گونه ریشه‌ای، صرف‌نظر شد. شاخه‌ها در محیط کشت MS و MS ۱/۲ به‌شدت تولید کالوس کردند (شکل ۲).



الف ب ج

شکل ۲- محیط کشت‌های مختلف به‌منظور ریشه‌زایی الف) محیط MS ب) محیط پشم سنگ ج) محیط ۱/۲MS

Archive of SID

www.SID.ir

شکل ۳- گلدهی گونه ***C.aronia*** در محیط ریشه‌زایی حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر **IBA**

بحث

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد ریزنمونه رشدکرده، تعداد شاخساره و طول شاخساره ۳ گونه زالزالک (آزمایش اول)

درصد ریزنمونه رشد کرده، تعداد شاخساره و طول شاخساره در این پژوهش تحت تأثیر گونه زالزالک و غلظت تنظیم‌کننده رشد بود. در این پژوهش حداکثر تعداد شاخساره (۴/۳۳ شاخه) در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP در گونه *C. aronia* مشاهده شد. تشکیل شاخساره بیانگر به‌وجود آمدن پریموردیوم‌های جدید شاخه تحت تأثیر ژنوتیپ گیاهی، نوع و غلظت هورمون‌های محیط کشت است. هورمون BAP جزو سایتوکینین‌ها بوده که سبب افزایش شاخساره می‌گردد. این میزان شاخساره‌زایی در غلظت بالای BAP در این تحقیق با نتایج Evers و همکاران (۱۹۸۸) روی درختان جنگلی، Freire و همکاران (۲۰۰۲) روی گلابی روکا و Gokbunar (۲۰۰۷) روی گونه *Crataegus* SPP مطابقت دارد. در حضور BAP شاخه‌زایی انجام می‌شود، ولی این شاخساره‌های جانبی از نوع محوری بوده و به‌ندرت از شاخساره‌های نابجا هستند (Muna *et al*.,1999). نقش و اثر BAP در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید است. بنابراین با افزایش غلظت BAP در محیط، شاخه‌زایی بیشتری تولید می‌شود(Iapichino *et al*.,2009) که دلیلی بر نتایج این پژوهش است. در همین راستا Gokbunar (۲۰۰۷) در گونه *Crataegus* spp گزارش کرد که هیچ مورد شاخه‌زایی در محیط کشت حاوی NAA و بدون سایتوکینین انجام نشد، بنابراین سایتوکینین برای تشکیل شاخساره لازم است. همچنین در این پژوهش در تیمار با غلظت کم سایتوکینین شاخساره‌زایی کمتری انجام شد که با نتایج Ahmadloo و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. بزرگترین طول شاخساره به‌میزان ۲۲/۶۷ میلی‌متر در *C.meyeri* مربوط به‌تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی سبب تنش در محیط شده و از طرفی به‌دلیل تولید شاخساره و رقابت بین شاخساره‌ها، کاهش طول شاخساره در تیمار-های با غلظت بالای BAP مشاهده شد. با افزایش غلظت BAP طول شاخساره کاهش یافت که ممکن است کاهش طول شاخساره به‌دلیل تأثیر BAP بر افزایش تعداد جوانه-های نابجا روی ریزنمونه و افزایش رقابت بین جوانه‌ها باشد (Khodaee *et al*.,2012). در حالی که در غلظت‌های کمتر BAP شاخساره‌ها با تعداد کمی شاخه جانبی شروع به‌رشد کردند و رقابت کمتری بین شاخساره‌ها مشاهده شد. در ضمن Baraldi (۱۹۸۸) در مورد بررسی اثر BAP روی *Prunus irsitta*نتیجه گرفت که BAP رشد طولی شاخه را کاهش می‌دهد، اما در این پژوهش در غلظت‌های بیشتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP رشد طولی شاخه کاهش یافت، این

Archive of SID

www.SID.ir

تفاوت می‌تواند به فیزیولوژی و سازوکار جذب گیاه مربوط باشد. بنابراین به‌نظر می‌رسد که این گونه‌های زالزالک مشابه جنس‌های دیگر خانواده گلسرخیان مانند جنس *Prunus* که در غلظت‌های بالاتر از ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر BAP تولید شاخه‌های رزت می‌کنند، نیازمند سطوح پایین‌تر هورمون سایتوکینین برای ایجاد شاخساره‌هایی با طول بیشتر می‌باشند (Kadotaet *al.*, 2003). بیشترین درصد ریزنمونه رشدکرده به‌میزان ۸۹/۶۷ درصد در *C. aronia* و کمترین درصد ریزنمونه رشدکرده در *C. pseudohetrophylla* به‌میزان ۱۵/۳۳ درصد مشاهده شد (جدول۲). میزان باززایی در رقم‌های مختلف متفاوت بوده و اختلاف باززایی در ارقام مختلف، نشانه‌هایی از لینکاژ ژنتیکی است، که موجب عدم باززایی می‌شود، و علت آن معمولاً ژنتیکی است (Passey,2003). البته غلظت بالای اکسین درونی ممکن است از باززایی شاخه جلوگیری کند (Cassells, 1979). باززایی با توجه به گونه و رقم بسیار متفاوت بوده و پروتکل باززایی از یک گونه به گونه دیگر و از رقمی به رقم دیگر متفاوت است (Biswas *et al.*, 2008).

تأثیر تیمار هورمونی بر ریشه‌زایی ۳ گونه زالزالک (آزمایش ۲)

در محیط کشت‌های مذکور و تیمارهای مختلف هورمونی هیچ ریشه‌ای تولید نشد، اما در تیمار کوتاه‌مدت که ریزنمونه‌ها به‌مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق نگهداری و بعد به‌محیط کشت فاقد هورمون و شرایط روشنایی ۱۶/۸ انتقال یافتند، گونه *C. aronia* در محیط کشت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA در خردادماه شروع به گلدهی کرد. در همین راستا Mehmetو همکاران (۲۰۱۲) در گونه *C.aronia* ریشه‌زایی کمتر از ۱۰ درصد را گزارش کردند. این امر ممکن است به این دلیل باشد که هنوز ریزنمونه‌ها از نظر فیزیولوژیکی بالغ بوده و به اندازه کافی جوانسازی انجام نشده است، به‌طوری‌که وقتی این ریزنمونه‌ها به محیط کشت جدید منتقل شدند، در تیمار کوتاه‌مدت تمام جوانه‌های گل در گونه *C. aronia* توسعه یافتند و شروع به گلدهی کردند، که این گلدهی به وضعیت فیزیولوژیکی درخت مادری که مواد گیاهی از آن گرفته شده نیز بستگی دارد. زالزالک ازجمله گیاهان سخت ریشه‌زا بوده و ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های به‌دست آمده از گیاهان بالغ ممکن است رضایت‌بخش نباشد، اما این احتمالاً در نتیجه بلوغ فیزیولوژیکی گیاه باشد، که ممکن است برای چند ماه و حتی چند سال در گیاه باقی بماند (Nas *et al.*, 2003). در آزمایشی توسط Maharic و همکاران (۲۰۰۹) در ماه June شاخه‌های *C. sinaica* در محیط ۱/۲MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA شروع به گلدهی کردند، که همسو با نتایج این تحقیق است (شکل ۳). در مورد گلدهی در شرایط درون شیشه‌ای وضعیت فیزیولوژیکی ریزنمونه‌های مادری، محیط کشت کم نمک، حضور اکسین و سایتوکینین سبب انتقال از مرحله رویشی به مریستم‌های گل می‌شود (Walter*etal* &Thakur., 1998). در طول مدت اندام‌زایی و مطابق با فرمولاسیون تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط، القاء تقسیم سلولی تسریع پیدا کرده و منجر به تشکیل حالت مریستمی می‌گردد، که ممکن است از نظر مرفولوژیکی انعطاف‌پذیر بوده و قابلیت توسعه به تعدادی پریموردیای ریشه یا شاخه گل داشته باشد، که این خاصیت توسعه منحصر به فرد ممکن است یک تفسیر منطقی و معقول در مورد گلدهی در شرایط درون‌شیشه‌ای باشد (Theologies,1986). عدم ریشه‌زایی در این تحقیق با نتایج Al-mansrah (۲۰۱۲) روی گونه *Crataegus aronia* و نیز Hangyan و همکاران (۲۰۰۷) روی گونه *C. pinnatifida* مطابقت دارد.

در بررسی Nas و همکاران (۲۰۱۲) روی گونه *C.aronia* پس از دو سال واکشت کردن گیاهچه‌ها، همچنین Ahmadloo و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گونه *C. pseudoheterophylla Pojark* بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط ۱/۲MS با یک هفته قرارگیری در تاریکی در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۴۰ میلی‌گرم در لیتر PG به دست آمد، که این اختلاف ممکن است به شرایط فیزیولوژیکی، فصل انجام آزمایش و سن فیزیولوژیکی نمونه‌ها مرتبط باشد. به‌منظور تکثیر تجاری و

Archive of SID

www.SID.ir

به‌دست آوردن دستورالعمل ریشه‌زایی گونه‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، ضروری است تیمارهایی با غلظت-های مختلف اکسین و محیط‌های کشت در مطالعـات بعـدی سایر پژوهشگران انجام شود.

منابع مورد استفاده:

–Ahmadloo, F., TabariKoochaksaraei, M., Azadi, P., Hamidi, A. and Beiramizadeh, E., 2014. Micropropagation of *Crataeguspseudo heterophylla* Pojark. via *in vitro* culture. Journal of Wood and Forest Science and Technology, 21:1-23 (In persian).

–AL-Aubaidi. H.K.M., 2011. Rooting of *Crataegus Japan* L. *In vitro* using IBA. Journal of Biotechnology Recearch Center, 5(3): 5-8.

–Al-Manasrah, W.S., 2012. *In vitro* propagation of *Crataegus aronia* L. and secondary metabolites detection. M.Sc. Thesis. Palestine Polytechnic University. Deanship of Higher Studies and Scientific Research. Master Program of Biotechnology. Sydney, Australia. 99 p.

–Arjmandi, A., Nazeri, V., Ejtehadi, H. and Joharchi, M.R., 2009. Review of the genus *Crataegus* in the North East and East of Iran. Rostaniha, 10: 1-12.

–Baraldi, R., 1988. *In vitro* shoot development of Prunus GF-655-2: Interaction between light and benzyl adenine. Physiologia Plantarum, 74: 440-443.

–Biswas, M.K., Islam, R., Hossain, M., 2008. Micropropagation and field evaluation of strawberry in Bangladesh. Journal of Agriculture Technology, 4(1): 167-182.

–Bujarska-Borkowska, B., 2002. Breaking of seed dormancy, germination and seedling emergence of the common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq). Dendrobiology, 47: 61-70.

–Caboni, E., Meneghini, M., Tonelli, M., 2010. Improved micropropagation of azarole (*Crataegus azarolus L.*). Propagation of Ornamental Plants, 10(1): 9-13.

–Cassells, A.C., 1979. The effect of 2,3,5-tri-iodobenzoic acid on caulogenesis in callus cultures of tomato and pelargonium. Physiology Plant, 46: 156-164.

–Donmez, A.A., 2004. The genus *Crataegus* L. (*Rosaceae*) with special reference to hybridization and biodiversity in Turkey Journal of Botany, 28: 29-37.

–Evers, P.W., Donkers, J., Prat A, and Vermeer, E., 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture. Centre for agricultural publishing and documentation (pudoc), Wageningen. In: *In vitro* culture of trees, 1992, J. M. Bonga & Aderkas P. pp: 98.

–Freire, I. C. G., Oelho, C. P. S. C., and Barros, M. T. F., 2002. Improved culture media for the *in vitro* establishment of pear from nodal cuttings. Acta Horticulturae, 569: 457- 461.

–Gokbunar, L., 2007. *Invitro* micropropagation of howthorn (*Crataegu sp*). M. Sc. Of Horticulture. Kahramanmaras sutcu Imam University Institute of Natural and Applied Science, Turkey. 42p.

–Hongyan, D., Zhihong, Z., Xiuwu, G., 2007. Adventitious bud regeneration from leaf and cotyledon explants of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* bge. var. major N.E.Br.). *In Vitro* Cell. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant, 43: 2–8.

–Iapichino, G., Airò M., 2009. Multiplication of *Crataegus monogyna* by invitro culture of nodal segments. Acta Horticulturae, 812: 135-140.

–ISTA (International seed testing Association)., 2008. Annexe to chapter seed health teting methods. 199p.

–Kadota, M., Niimi, Y., 2003. Effects of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity in *Invitro* pear cultivar shoots. Plant Cell, Tissue Organ Culture, 72: 261-265.

–Khodaee Chegini, F., Abdollahi, H., Ershadi, A., Asna Ashari, M., 2012. Determination of micro-propagation protocol for OH × F333 and OH × F69 pear clonal rootstocks. Seed and Plant Production Journal, 2-27(3): 297-312. (In Farsi).

–Maharic, N., Elgengaihi, S., Taha, H., 2009. *Invitro* propagation of the endangered Sinai hawthorn *Crataegus sinaica* Boiss. International Journal of Academic Research, 1(1): 24-29.

–Mehmet, N., Leyla G., Nevazat, S., Murat, A., Merve, D., Zahide, S., 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. Plant Growth Regulators, l67: 57-63.

–Muna, A., Ahmad, A., Mahmoud, K., Abdul-Rahman, K., 1999. *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 59: 203-208.

–Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15: 473-497.

–Nas, M.N, Gokbunar, L., Sevgin, N., Aydemir, M., Dagli, M., Susluoglu, Z., 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. Journal of Plant Growth Regulators, 67(1): 57-63.

–Nas, M.N., Read, P.E., Miller, V., Rutter, P.A., 2003. *In vitro* rejuvenation of woody species is temporary.

Archive of SID

www.SID.ir

Acta Horticulture, 625: 211–215.
–Passey, A.J., Barrett, K.J., James, D.J., 2003. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria×ananasa* Duch.) using a range of explants types. Plant Cell Reports, 21: 397-401.
–Thakur R. Raw, P. S., 1998. *In vitro* plant regeneration in *Melia azedarach. L.* Plant Cell Reports, 18:127-131.
–Theologies, A., 1986. Rapid gene regulation by anxin. Annual Reviews, Plant Physiology, 37: 407– 488.
–Walter, H., Eny, I.S.F., 1998. New-formation of flower buds and other morphogenetic responses in tissue cultures of *Melia azedarach*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 64: 63-67.

Archive of SID

www.SID.ir

Effects of species and plant growth regulators on shoots and rooting of three species of hawthorn

N. Taimori [1], D. Kahrizi [2*], V. Abdossi [3] and A. Papzan [4]

1- Department of Horticulture, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran
2*- Associate Professor, Departmnt of Agronomy and Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, I.R. Iran
E-mail: dkahrizi@Yahoo.com
3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran
4- Associate Professor, Agricultural Extension and Education, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R. Iran

Received: 17.01.2017 Accepted: 28.03.2017

Abstract

Hawthorn (*Crataegus* spp) is one of the important forest genera in Iran. It is high compatibel to cold and drought and usefull as a rootstock for quince, pear and apple. This research was carried out in order to assess shoots and rooting of three species of hawthorn **(***C. aronia, C. pseudohetrophylla, C. meyeri*). For shoot production, different concentrations of plant growth regulators and single-node were used. The explants were cultured on different concenterations of BAP and NAA on MS medium. On average after 6 weeks maximum number of shoots in concenteration of 1mg/l NAA plus 4 mg/l BAP (4.33 branch) was observed. The highest percentage of explants (89.67 %) was observed on *C. aronia* and maximum shoot length (22.67 mm) was observed on *C. meyeri* using 1 mg/l NAA and 1 mg/l BAP. For rooting stage, we used MS, 1/2MS and rock wool with proliferated explants derived from suker and *in vitro* proliferated shoots. The explants were cultured on 16 different media treatments of MS, 1/2MS and rock wool medium. Root was not formed in none of the species, treatments and media. Maximum shoot length (22.67 mm) was observed on *C. meyeri*, and maximum number of branches was observed on *C. aronia*.

Key words: Hawthorn, proliferation, rooting, plant growth regulators

Archive of SID

www.SID.ir