دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI):10.22092/ijrfpbgr.2018.116233.1283
جلد ۲۶، شماره ۲، صفحه ۲۴۳-۲۳۳ (۱۳۹۷)

مطالعه کشت بافت و اندام‌زایی بارانک ایرانی (*Sorbus persica* Hedl.)

مسعود اسماعیلی‌شریف[۱*]، سیدمحمد حسینی‌نصر[۲]، عباس قمری‌زارع[۳] و مجید طالبی‌بداف[۴]

۱* نویسنده مسئول، استادیار، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اصفهان
پست الکترونیک: m.esmaeilisharif@areeo.ac.ir

۲- دانشیار، گروه جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

۳- دانشیار، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران

۴- دانشیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۵

چکیده

بارانک ایرانی (Sorbus persica Hedl.) در فهرست گیاهان در آستانه انقراض بوده و از نظر حفاظت خاک، تلطیف آب و هوا، خواص دارویی، اهمیت رویشگاهی، مأمن حیات وحش و مقاومت بالا در برابر سرما از ارزش زیادی برخوردار است. این پژوهش با هدف دستیابی به روش مناسب ریزازدیادی گونه بارانک ایرانی اجرا شد. قطعه‌های گره‌ای از نهال‌های بذری بارانک ایرانی تهیه شده و در ظروف شیشه‌ای حاوی محیط کشت WPM با ۲۷ ترکیب هورمونی BAP، TDZ و IBA کاشته شدند. سپس شاخساره‌های حاصل، برای القاء ریشه‌زایی در محیط کشت حاوی سطوح مختلف IBA یا NAA واکشت و در نهایت به محیط خارج از شیشه منتقل شدند. درصد باززایی کلیه تیمارها ۱۰۰-۹۸ درصد بود. بیشترین تعداد شاخساره (۱۳ عدد) در تیمار BAP (۴/۴µM) + IBA (۰/۱µM) + TDZ (۰/۲۳µM)، بیشترین طول شاخساره (۲/۵ cm) در اثر متقابل هورمون‌های BAP (۴/۴µM) + IBA (۰/۰µM) + TDZ (۰/۲۳µM) و بیشترین تعداد گره (۸ عدد) در تیمار هورمونی BAP(۴/۴µM +(۰/۰µM و ۲/۲µM) + IBA (۰/۱µM و TDZ (۰/۲۳µM) حاصل شد. اختلاف معنی‌داری بین غلظت IBA در تیمارهای مختلف از نظر درصد ریشه‌زایی ملاحظه شد و حداکثر ریشه‌زایی (۱۴/۷٪) در تیمار ۵ میکرومولار حاصل شد. نهال‌های ریشه‌دار شده در شرایط درون شیشه‌ای، با موفقیت در شرایط گلخانه مستقر شدند. در غیاب هورمون BAP تعداد شاخساره‌های تولید شده به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. پانزده درصد از گیاهانی که به‌محیط ریشه‌زایی منتقل شدند، یک تا سه ریشه در هر ریزنمونه تولید کردند.

واژه‌های کلیدی: اکسین، اندام‌زایی، بارانک ایرانی، سیتوکینین، کشت بافت

مقدمه

بارانک ایرانی (*Sorbus persica* Hedl.) یکی از گونه‌های در معرض خطر انقراض (IUCN, 2013) و درختچه‌ای ارزشمند از جنگل‌های استان اصفهان (زاگرس مرکزی) است. عوامل متعددی ازجمله مشکلات مربوط به جوانه‌زنی بذر و استقرار نهال زادآوری گونه‌های مختلف را در عرصه‌های جنگلی تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این تحقیق کشت بافت و اندام‌زایی گونه بارانک ایرانی بررسی

Archive of SID
www.SID.ir

شد. مطالعات مختلف نشان داده است که هورمون BAP هورمونی کارآمد در پرآوری شاخساره گونه‌های *S. domestica* L. (Arrillaga *et al.*, 1992) و *S. aucuparia* L. (۲) و هورمون IBA اتیلنی مؤثر در ریشه‌زایی گونه *S. torminalis* L. است (Chalupa, 2002). همچنین گزارش‌هایی مبنی بر اثرات مفید TDZ بر پرآوری شاخساره‌ها در گونه *S. aucuparia* L. (Lall *et al.*, 2006) وجود دارد. مناسب‌ترین محیط کشت شاخه‌زایی و تکثیر شاخه گونه درختی کندرشد تیس (*S. aucuparia*) محیط کشت DKW با هورمون‌های BA، TDZ و IBA در غلظت‌های به‌ترتیب ۰/۵، ۰/۰۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر عنوان شده است (Emam and Ghamarizare, 2013). در تحقیقی Máté (2006) اثر تنظیم‌کننده‌های رشد را بر تکثیر کولتیوارهای *S. redliana* در مجارستان بررسی کرده و نشان داد که در محیط کشت MS با انواع کینتین‌ها و اکسین‌ها برای تعیین غلظت بهینه و تنظیم‌کننده رشد بهینه، ترکیب BA: ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر+ IBA: ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر منجر به تولید بیشترین تعداد شاخه شد.

انتخاب ریزنمونه، ترکیب محیط کشت، غلظت هورمون‌های گیاهی (PGRe) و روش‌های ریزازدیادی اثرات معنی‌داری بر میزان تکثیر ساقه، ریشه‌دهی و کیفیت درختان تولیدی دارد (Us-Camas, *et al.*, 2014). محیط‌های کشت اصلاح شده MS که در آزمایش‌ها استفاده می‌شوند رشد ساقه را به‌خوبی تأمین می‌کنند. در تحقیقاتی Chalupa (۱۹۸۷) با بررسی اثر BAP و TDZ متوجه شد که BAP در غلظت ۱-۰/۲ میلی‌گرم در لیتر و TDZ در غلظت ۰/۵-۰/۰۰۵ میلی‌گرم در لیتر بهترین نتیجه را در شاخه‌زایی بارانک دارند. همچنین Chalupa (۲۰۰۲) اثر معنی‌دار منبع ریزنمونه و ژنوتیپ را بر ریزازدیادی گونه *S. aucuparia* L. نشان داد. ریزنمونه‌های تهیه شده از قسمت‌های پائین‌تر گیاهان بالغ در محیط کشت MS اصلاح شده حاوی سیتوکینین (BAP و TDZ) و اکسین (IBA) موفق‌ترین تیمارها بودند. در همین رابطه Calpe (۲۰۰۲) با استفاده از ریزنمونه‌های گره و رأس ساقه *S. aucuparia* L. موفق به تکثیر سریع شاخه‌ها و جوانه‌های جانبی شد. برای اولین بار Kadolsky (۲۰۰۷) روش کشت و انجماد گونه درختی ارزشمند و در معرض خطر *S. torminalis* را به‌منظور تسهیل در حفاظت و بهره‌برداری، ارزیابی و بهینه‌سازی نمود. ریزنمونه‌ها شامل جوانه‌های در حال خواب زمستانه بود که به‌طور عمده از درختان منتخب آزمایشهای نتاج تهیه شد. شاخه‌های حاوی جوانه‌های زمستانه طی دو سال در ماه‌های میلادی نوامبر، دسامبر، ژانویه، فوریه و مارس برداشت شده و بلافاصله پس از دو ماه ذخیره‌سازی در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد بررسی شدند. نتایج کشت *In vitro* بین سال‌های آزمایش متفاوت بود. نتایج نگهداری جوانه‌های بارانک برداشت شده در ماه‌های دسامبر و ژانویه (آذر و دی) در شرایط فراسرد موفق‌آمیز بود. در تحقیق دیگری Jorgensen و Binding (۱۹۸۴) پروتکل‌های تولید کالوس از پروتوپلاست سلولی گونه *S. aucuparia* را ارائه کردند. اما تاکنون هیچ مطالعه‌ای در مورد ریزازدیادی گونه *S. persica* انجام نشده است. در این پژوهش ریزازدیادی بارانک ایرانی (*S. persica*) به‌روش اندام‌زایی مستقیم شرح داده می‌شود.

مواد و روش‌ها

قطعه‌های گره‌ای از جوانه‌های جانبی نهال‌های جوان حاصل از تکثیر جنسی (بذری) بارانک ایرانی به‌طول ۱-۰/۵ سانتی‌متر تهیه شدند. ریزنمونه‌های حاصل در ویال‌های (واحد آزمایشی) حاوی محیط کشت سترون WPM (۲۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵/۸ گرم در لیتر آگار) همراه با تیمارهای هورمونی در سه تکرار، در هر تکرار پنج قطعه گره‌ای کشت گردیدند. در آزمایش‌های مقدماتی مشخص شد که غلظت‌های بیش از ۴/۴ میکرومولار BAP، ۰/۱ میکرومولار IBA و ۰/۴۵ میکرومولار TDZ موجب عدم موفقیت در رشد و نمو ریزنمونه‌ها می‌شود.

Archive of SID

www.SID.ir

بنابراین کلیه آزمایش‌ها در محیط کشت با فرمول‌های هورمونی (صفر، ۰/۲۳ و ۰/۴۵ میکرومولار) TDZ + (صفر، ۰/۰۵ و ۰/۱ میکرومولار) IBA + (صفر، ۲/۲ و ۴/۴ میکرومولار) BAP انجام شد (جدول ۱). کلیه ویال‌های دو آزمایش بالا با فویل پلاستیکی بسته شده و بعد به اطاقک رشد با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۱۲۰۰۰-۱۰۰۰ لوکس منتقل شدند.

واکشت گیاهان باززایی شده دو بار دیگر و هر بار به‌مدت پنج هفته در محیط‌های کشت، مشابه کشت اولیه، اما این‌بار در هر ویال یک ریزنمونه انجام شد. پس از واکشت دوم از هر تیمار ۳ گیاه از سه ویال خارج و صفات مورفولوژیک، تعداد و طول شاخساره‌ها ارزیابی شد. در هر واکشت هنگامی که طول هر گیاهچه به ۳-۲ سانتی‌متر رسید، گیاهان حاوی شاخساره‌های متعدد به ۵ تا ۱۰ قسمت تقسیم شده و در محیط کشت جدید برای ادامه فرایند پرآوری منتقل گردیدند.

ریشه‌زایی و مقاوم‌سازی گیاهان باززایی شده

در واکشت چهارم، گیاهان باززایی شده حاوی ۴-۳ شاخساره در محیط WPM فاقد هورمون واکشت شده و از هفته پنجم در محیط کشت حاوی سطوح مختلف (صفر، ۲/۵، ۵ و ۷/۵ میکرومولار) یکی از هورمون‌های IBA یا NAA برای القاء ریشه‌زایی واکشت گردیدند. بعد از آنکه طول ریشه گیاهان به بیش از پنج سانتی‌متر رسید، تعداد و درصد ریشه‌زایی گیاهان یادداشت و بعد به محیط خارج شیشه‌ای منتقل شد. به این منظور گیاهان به گلدان‌های حاوی پیت‌ماس + پرلیت (۱:۳) اتوکلاو شده در گلخانه با شرایط دمایی ۲±۲۰ °C منتقل شدند. در دو هفته نخست برای ممانعت از دهیدراسیون، گیاهان با درپوش‌های پلاستیکی پوشش داده شده و پس از آن درپوش‌های پلاستیکی برداشته شد.

نتایج

درصد باززایی کلیه تیمارها ۱۰۰-۹۸ درصد بود. بیشترین تعداد شاخساره در غلظت BAP ۴/۴µM، هشت عدد بود، اما بیشترین طول شاخساره (۲ cm) در تیمار ۲/۲µM حاصل شد (جدول ۲).

بیشترین تعداد و طول شاخساره و تعداد گره به‌ترتیب ۱۳ عدد، ۲/۵ سانتی‌متر و ۸ عدد بود (جدول ۳). مراحل مختلف کشت بافت بارانک ایرانی در شکل ۱ نشان داده شده است. پنج هفته پس از واکشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت حاوی هورمون‌های اکسین (NAA و IBA)، ریشه‌زایی گیاهچه‌ها ارزیابی شد. حداکثر تعداد ریشه (۳ عدد) هر ریزنمونه در محیط کشت حاوی IBA با غلظت ۵ µM حاصل شد (جدول ۴). هیچیک از ریزنمونه‌ها در محیط فاقد اکسین ریشه‌زایی نداشتند. بیشترین طول ریشه (۸/۳ سانتی‌متر) نیز در غلظت ۵ µM هورمون IBA حاصل شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد (شکل ۲). در ضمن IBA نسبت به NAA ظرفیت القاء ریشه‌زایی بیشتر و تولید ریشه‌های بلندتر را در این گونه داشت. کلیه گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به‌خوبی با شرایط گلخانه و خارج از گلخانه سازگار شدند (شکل ۳).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۱- تیمارهای هورمونی مورد استفاده (بر حسب میکرومولار) در ریزازدیادی بارانک ایرانی

شماره تیمار	BAP	TDZ	IBA
۱	۰	۰	۰
۲	۰	۰	۰/۲۳
۳	۰	۰	۰/۴۵
۴	۰	۰/۰۵	۰
۵	۰	۰/۰۵	۰/۲۳
۶	۰	۰/۰۵	۰/۴۵
۷	۰	۰/۱	۰
۸	۰	۰/۱	۰/۲۳
۹	۰	۰/۱	۰/۴۵
۱۰	۲/۲	۰	۰
۱۱	۲/۲	۰	۰/۲۳
۱۲	۲/۲	۰	۰/۴۵
۱۳	۲/۲	۰/۰۵	۰
۱۴	۲/۲	۰/۰۵	۰/۲۳
۱۵	۲/۲	۰/۰۵	۰/۴۵
۱۶	۲/۲	۰/۱	۰
۱۷	۲/۲	۰/۱	۰/۲۳
۱۸	۲/۲	۰/۱	۰/۴۵
۱۹	۴/۴	۰	۰
۲۰	۴/۴	۰	۰/۲۳
۲۱	۴/۴	۰	۰/۴۵
۲۲	۴/۴	۰/۰۵	۰
۲۳	۴/۴	۰/۰۵	۰/۲۳
۲۴	۴/۴	۰/۰۵	۰/۴۵
۲۵	۴/۴	۰/۱	۰
۲۶	۴/۴	۰/۱	۰/۲۳
۲۷	۴/۴	۰/۱	۰/۴۵

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت BA (میکرومولار) بر ریزنمونه‌های بارانک ایرانی

تعداد میانگره	تعداد شاخساره	طول شاخساره (cm)	غلظت BA (µM)
۴/۱ b	۱/۸ c	۱/۱ c	۰/۰
۶/۳ a	۷/۳ b	۲/۰ a	۲/۲
۶/۲a	۸/۱ a	۱/۳ b	۴/۴

حروف مشابه در هر ستون مبین معنی‌دار نبودن اختلافات در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن است.

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد (BA، IBA، TDZ)

غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد (µM)			تعداد گره	طول شاخساره (cm)	تعداد شاخساره
BA	IBA	TDZ			
۰	۰	۰	۵/۰ a-e	۱/۶ cde	۱/۳ h
۰	۰	۰/۲۳	۴/۰ d-e	۱/۲ e-h	۱/۷ h
۰	۰	۰/۴۵	۴/۷ b-e	۰/۶ i	۲/۷ h
۰	۰/۰۵	۰	۵/۰ a-e	۱/۵ def	۱/۰ h
۰	۰/۰۵	۰/۲۳	۴/۳ cde	۱/۱ e- i	۱/۳ h
۰	۰/۰۵	۰/۴۵	۴/۰ de	۰/۸ hi	۲/۳ h
۰	۰/۱	۰	۳/۷e	۱/۴ d-g	۱/۷ h
۰	۰/۱	۰/۲۳	۳/۳ e	۱/۰ f- i	۱/۷ h
۰	۰/۱	۰/۴۵	۳/۳ e	۰/۸ hi	۲/۷ h
۲/۲	۰	۰	۶/۳ a-e	۲/۲ ab	۶/۰ ghi
۲/۲	۰	۰/۲۳	۸/۰ a	۲/۱ abc	۵/۳ hij
۲/۲	۰	۰/۴۵	۶/۳ a-e	۲/۴ a	۵/۰ hij
۲/۲	۰/۰۵	۰	۶/۰ a-e	۱/۸ bcd	۱۱/۰ b
۲/۲	۰/۰۵	۰/۲۳	۶/۰ a-e	۲/۳ ab	۹/۳ b-e
۲/۲	۰/۰۵	۰/۴۵	۴/۷ b-e	۱/۸ bcd	۹/۳ b-e
۲/۲	۰/۱	۰	۷/۰ a-d	۲/۲ ab	۸/۳ efg
۲/۲	۰/۱	۰/۲۳	۵/۰ a-e	۱/۸ bcd	۶/۳ f-i
۲/۲	۰/۱	۰/۴۵	۷/۰ a-d	۱/۲ e-h	۵/۳ hi
۴/۴	۰	۰	۷/۰ a-d	۲/۵ a	۴/۷ h-l
۴/۴	۰	۰/۲۳	۷/۰ a-d	۲/۲ ab	۴/۷ h-l
۴/۴	۰	۰/۴۵	۷/۳ a-c	۱/۳ d-h	۴/۷ h-l
۴/۴	۰/۰۵	۰	۴/۰ de	۱/۰ f- i	۹/۳ b-e
۴/۴	۰/۰۵	۰/۲۳	۷/۷ ab	۱/۰ f- i	۱۰/۳ bcd
۴/۴	۰/۰۵	۰/۴۵	۵/۷ a-e	۱/۰ f- i	۱۰/۷ bc
۴/۴	۰/۱	۰	۵/۳ a-e	۰/۹ ghi	۹/۷ b-e
۴/۴	۰/۱	۰/۲۳	۸/۰ a	۱/۳ d-h	۱۳/۳ a
۴/۴	۰/۱	۰/۴۵	۴/۰ de	۰/۸ hi	۶/۷ fgh

حروف مشابه در هر ستون مبین معنی‌دار نبودن اختلافات در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن است.

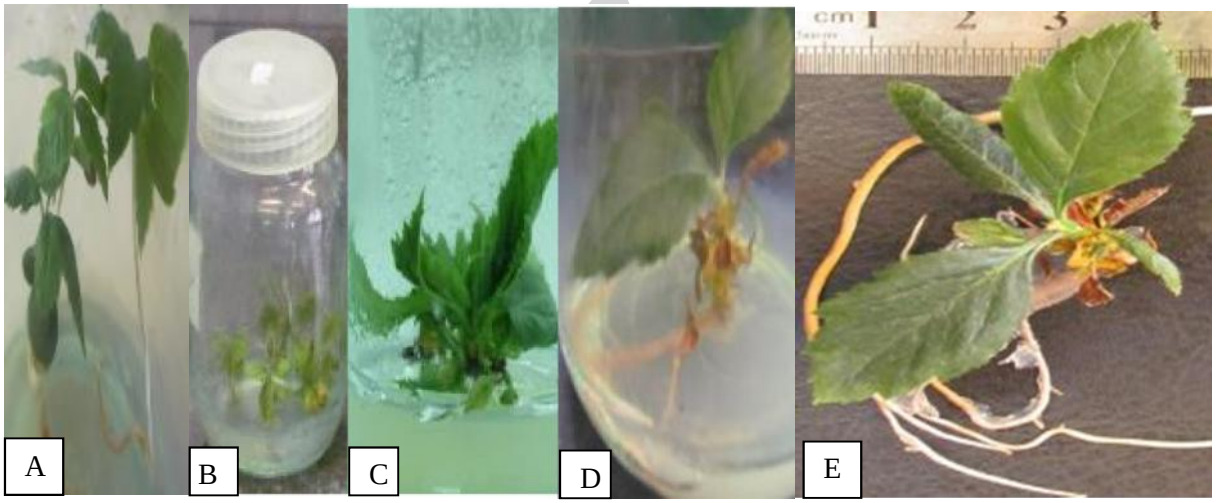
Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های IBA/NAA بر ریشه‌زایی ۱۲ هفته پس از کاشت ریزنمونه‌های حاصل از نهال بارانک ایرانی در محیط ریشه‌زایی

نوع هورمون	غلظت (µM)	طول ریشه (cm)	تعداد ریشه در ریزنمونه	درصد ریشه‌زایی
IBA	۰	c۰	b۰	d۰
	۲/۵	b۵/۳	b۰/۷	c۵/۳
	۵	a۸/۳	a۳	a۱۴/۷
	۷/۵	b۵/۳	b۱/۳	b۱۰/۷
NAA	۰	c۰	b۰	d۰
	۲/۵	b۳/۰	b۰/۷	cd۲/۷
	۵	b۵/۰	b۰/۷	cd۴/۰
	۷/۵	c۰	b۰	d۰

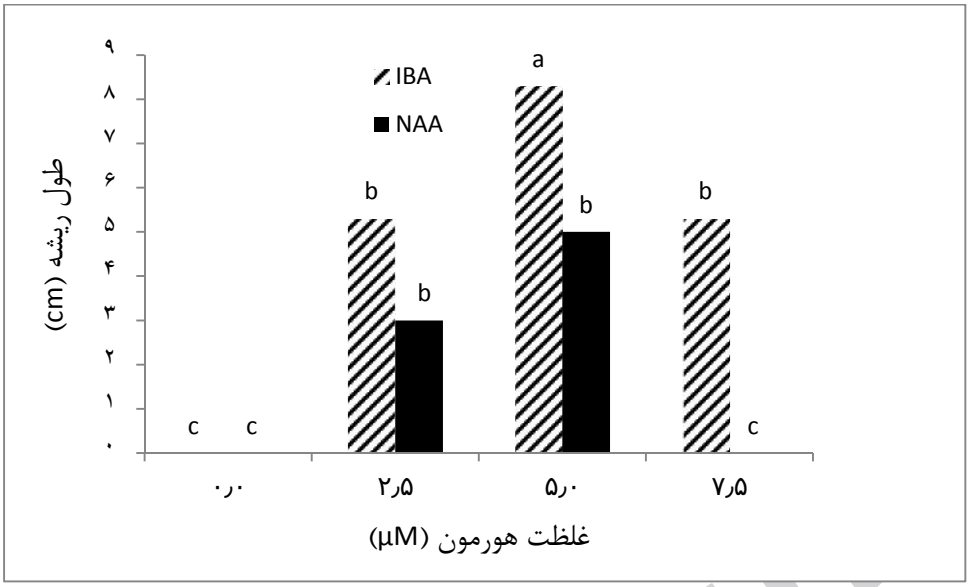
حروف مشابه در هر ستون مبین معنی‌دار نبودن اختلافات در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن است.



شکل ۱- مراحل مختلف کشت بافت *Sorbus persica* Hedl.: A) نهال‌های جوانه‌زده در شرایط درون‌شیشه‌ای (*In vitro*) بر روی محیط کشت MS عاری از هورمون، B) استقرار ریزنمونه‌ها، C) پرآوری شاخساره‌های جانبی بر روی محیط کشت WPM حاوی PGRe، D: ریشه‌زایی، E: اندازه‌گیری طول و تعداد ریشه‌ها

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۲- اثرات غلظت و نوع هورمون‌های اکسین بر طول ریشه (cm) ریزنمونه‌ها

حروف مشابه مبین معنی‌دار نبودن اختلافات در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون دانکن است.

شکل ۳- مقاوم‌سازی گیاهان باززایی شده

بحث

در این تحقیق استفاده از ریزنمونه‌های حاصل از نهال موجب باززایی کلیه تیمارها در حد ۱۰۰-۹۸ درصد شد. باززایی مناسب ریزنمونه‌های حاصل از نهال توسط سایر محققان (Hosseini-Nasr & Rashid, 2002; Shahina & Anwar, 2010؛ Chalupa, 1992) نیز تأئید شده است. نتایج آزمایش‌های کشت بافت نشان داد که امکان تکثیر و ریزازدیادی گونه بارانک ایرانی در حضور

www.SID.ir

غلظت‌های مناسبی از تنظیم‌کننده‌های رشد وجود دارد. امروزه روش کشت بافت به‌عنوان یک روش موفق برای تکثیر انبوه گونه‌های مختلف بارانک (Arrillaga *et al.*, 1992؛ Chalupa, 1992؛ Malá *et al.*, 2009) توصیه می‌شود.

توفیق در ریزازدیادی در صورت وقوع یک سلسله فرایندهای پیچیده وابسته به محرک‌های داخلی یا خارجی است که خود مراحل رشدی گیاه را در شرایط *in vitro* تنظیم می‌کنند. نقش اکسین‌ها، سیتوکینین‌ها و اثرات متقابل بین آنها در فرایندهای مورفوژنز در طی تمایز اندام‌ها به‌خوبی اثبات شده است (Arrillaga *et al.*, 1992؛ Hosseini-Nasr & Rashid, 2002). در این تحقیق نیز کاربرد هورمون‌های BA و TDZ که از دسته سیتوکینین‌ها هستند و هورمون IBA که ازجمله اکسین‌ها است موجب توفیق در ریزازدیادی بارانک ایرانی گردید. نتایج به‌دست آمده در این آزمایش با نتایج Emam و Ghamarizare (2013) که کاربرد هورمون‌های BAP، TDZ و IBA در غلظت‌های به‌ترتیب ۲/۲، ۰/۲۳ و ۰/۰۵ میکرومولار را برای شاخه‌زایی و تکثیر تیس (*S. aucuparia*) معرفی نمودند، مطابقت دارد. در ضمن Nasiri (2001) نیز مناسب‌ترین تیمار شاخه‌زایی بارانک (*S. torminalis*) را با استفاده از هورمون BAP در غلظت ۲/۲ میکرومولار (البته بدون استفاده از هورمون‌های TDZ و IBA) بدست آورد. در پژوهشی Taimori و همکاران (2017) نیز با استفاده از غلظت چهار میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر NAA موفق به ریزازدیادی گونه *Crataegus* meyeri شدند. همینطور Ordogh و همکاران (۲۰۰۶) با ترکیب هورمونی BAP 3.3 µM+IBA 0.25 µM (و بدون استفاده از هورمون TDZ) بیشترین تعداد شاخساره را در کولتیوارهای *S. redliana* تولید نمودند. در همین زمینه Chalupa (2002) موفق‌ترین تیمارها برای ریزازدیادی تیس *S. aucuparia* را در محیط کشت MS و بعد WPM تغییر یافته حاوی سیتوکینین (BA و TDZ) و اکسین (IBA) بدست آورد. در حالی‌که Marques و همکاران (2012) وجود هورمون BA را برای ریزازدیادی بارانک (*S. torminalis*) الزامی می‌دانند. نتایج این آزمایش نیز نشان می‌دهد که در غیاب هورمون BA تعداد شاخساره‌های تولید شده برای گونه بارانک ایرانی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. به‌طوری‌که بیشترین تعداد شاخساره (۱۱ عدد) تحت تأثیر متقابل هورمون‌های BA(۴/۴µM) +IBA (۰/۱µM) حاصل شد. در حالی‌که Ordogh و همکاران (2006) تیمار BA(۳/۳µM) +IBA (۰/۲۵µM) را موجب حداکثر پرآوری (۸/۹۳ عدد شاخساره) معرفی نمودند. به‌طور کلی می‌توان این‌گونه نتیجه‌گیری نمود که حضور هورمون‌های استفاده شده (BA،TDZ و IBA) در محیط کشت به‌منظور تشکیل و پرآوری شاخساره‌های جدید از قطعات گره‌ای در گونه مورد بررسی همانند سایر گونه‌های جنس *Sorbus* ضروری و الزامی است و با افزایش غلظت سیتوکینین‌ها (BAP و TDZ) تعداد شاخساره تولید شده افزایش می‌یابد.

طول شاخساره با افزایش غلظت BA تا ۲/۲ µM افزایش و بعد کاهش یافت، این نتیجه تاحدودی با نتایج Marques و همکاران (2012) و Chalupa (2002) مطابقت دارد. Marques و همکاران (2012) طول طویل‌ترین شاخساره را ۲/۰۸ تا ۲/۲۴ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی ۴/۴ µM یا ۲/۲ µM همراه با غلظت ۴/۹ µM هورمون IBA گزارش نمودند. در این تحقیق نیز طویل‌ترین شاخساره به‌طول ۲/۵ و ۲/۴ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی ۴/۴ µM و ۲/۲ µM اما در غیاب هورمون IBA حاصل شد. با توجه به نتایج حاصل بیشترین تعداد شاخساره (۹ عدد) تحت تأثیر متقابل هورمون‌های BA(۴/۴µM) + TDZ (۰/۲۳µM) و کوتاه‌ترین طول شاخساره (۰/۷ cm) در اثر متقابل هورمون‌های BA(۰/۰µM) + TDZ (۰/۴۵µM) به‌دست آمد. در پژوهشی Chalupa (2002) نیز افزایش غلظت سیتوکینین‌ها به‌ویژه TDZ را از عوامل کاهش

Archive of SID

www.SID.ir

طول شاخساره‌ها در شرایط *in vitro* دانسته و در غلظت‌های ۸/۸-۴/۴ میکرومولار BA یا ۰/۲۵ تا ۰/۹۸ میکرومولار TDZ بیشترین و کوتاه‌ترین شاخساره‌ها را در گونه تیس گزارش نموده است.

نتایج حاصل از تیمارهای ریشه‌زایی نشان داد که تقریباً ۳ تا ۱۵ درصد گیاهانی که به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند، یک تا سه ریشه در هر ریزنمونه تولید نمودند. بنابراین در شرایطی که تکثیر رویشی از طریق قلمه نمی‌تواند موفق به تولید گیاهان مشابه گیاه مادری شود (Esmaeili Sharif 2015)، ریزازدیادی به‌روش تشریح شده توانسته است توفیق ارائه روشی نوین برای تولید و تکثیر ژنوتیپ‌های مورد نظر را از گونه بارانک ایرانی معرفی نماید.

سپاسگزاری

کلیه هزینه‌های این پژوهش از اعتبارات دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری تأمین شده است. بدین‌وسیله نویسندگان مقاله مراتب تقدیر و تشکر خود را از مدیریت دانشکده منابع طبیعی و به‌ویژه اعضای هیئت علمی و کارکنان گروه جنگل‌داری آن دانشگاه اعلام می‌دارند.

منابع مورد استفاده

- Arrillaga, I., Marzo, T. and Segura, J., 1992. Embryo culture of Fraxinus ornus and *Sorbus domestica* removes seed dormancy. Hortscience, 27: 371-371.
- Calpe, V. 2002. *In vitro* propagation of mature trees of *S. aucuparia* L. and field performance of micropropagated trees. Journal of Forest Science, 48 (12): 529–535.
- Chalupa, V., 1987. Effect of benzyl amino purine and Thydiazuron on *in vitro* shoot proliferation of *Tilia cordata* Mill., *Sorbus aucuparia* L. and *Robinia pseudoacaciae* L. Biologia Plantarum, 29: 425-429.
- Chalupa, V., 2002. *In vitro* propagation of mature trees of *S. aucuparia* L. and field performance of micropropagated trees. Journal of Forest Science, 48: 529–535.
- Chalupa, V., 1992. Micropropagation of mountain ash (*Sorbus aucuparia* L) and wild service tree (*Sorbus torminalis* L.): 211-225. In: Bajaj, Y.P.S. (Eds) Biotechnology in Agriculture and Forestry. Vol: 18. High- tech and Micropropagation Springer- Verlag, Berlin, 509 p.
- Emam, M. and Ghamarizare, A., 2013. Influence of plant growth regulators and media on *in vitro* propagation of *Sorbus aucuparia* L. Journal of Medicinal Plants and By-Products, 2: 53-56. (In Persian).
- Esmaeili Sharif, M., 2015. Investigating the propagation method of Iranian Mountain Ash (*Sorbus persica* Hedl.) and evaluation of somaclonal variation in regenerated plantlets. Ph.D. thesis, Forestry Department, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University, Mazandaran. (In Persian).
- Hosseini-Nasr, M. and Rashid, A., 2002. Thidiazuron-induced shoot-bud formation on root segments of *Albizzia julibrissin* is an apex-controlled, light-independent and calcium-mediated response. Plant Growth Regulation, 36: 81–85.
- IUCN. 2013. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2013.1. <www.iucnredlist.org>.
- Jorgensen, J. and Binding, H., 1984. Callus regeneration with protoplasts of *Sorbus aucuparia* L., Z. Pflanzen phys, 113: 371- 372,
- Kadolsky, M., 2007. Kryokonservierung und *in vitro* Kultur von *Pyrus pyraster* (L.) Burgsd. and S. *torminalis* (L.) Crantz. Master's thesis. Humboldt-Universität zu Berlin.
- Lall, S., Mandegaran, Z. and Roberts, A. V., 2006. Shoot multiplication and adventitious regeneration in *Sorbus aucuparia*. Plant cell, tissue and organ culture, 85: 23-29.
- Malá, J., Máchová, P., Cvrčková, H., Karady, M., Novák, O., Mikulík, J. and Doležal, K., 2009. Micropropagation of wild service tree (*Sorbus torminalis* [L.] Crantz): the regulative role of different aromatic cytokinins during organogenesis. Journal of plant growth regulation, 28: 341-348.
- Marques, S. L., Canhoto, J., Gonçalves, J. C. and Diogo, M. G., 2012. Micropropagation of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz: hormonal effects during multiplication and rooting phases. Proc. IInd International Symposium on Woody Ornamentals of the Temperate Zone 990, Portugal, 2012: 397-404.
- Máté Ö.M. Jambor-Benczur, E., Tilly-Mandy, A. and Lelik, L., 2006. The effects of growth regulators in proliferation of *S. redliana* 'Burokvolgy'. International Journal of Horticultural Science. 12: 77–83.
- Nasiri, M., 2001. Micropropagation of Rowan (*S. torminalis* (L.) Crantz) 1: stages of establishment and shoots, Iranian Journal of Rangelands and

Archive of SID

www.SID.ir

– Taimori, N., Kahrizi, D., Abdossi, V. and Papzan, A., 2017. Effects of species and plant growth regulators on shoots and rooting of three species of hawthorn. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 25: 337–347.
– Us-Camas, R., Rivera-Solis, G., Duarte-Ake, F. and De-la-Pena, C., 2014. *In vitro* culture: An epigenetic challenge for plants. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 118: 187–201.
Forests Plant Breeding and Genetic Research, 6: 115-129
– Ordogh, M., Jambor-Benczur, E., Tilly-Mandy, A. and Lelik, L., 2006. The effects of growth regulators in proliferation of S. redliana 'Burokvolgy'. International Journal of Horticultural Science, 12 (1): 77–83.
– Shahina, P. and Anwar, Sh., 2010. TDZ-induced high frequency shoot regeneration in *Cassia sophera* Linn. via cotyledonary node explants. Physiology and Molecular Biology of Plants, 16(2): 201-206.

Archive of SID

www.SID.ir

Tissue culture and organogenesis of Iranian mountain ash (*Sorbus persica* Hedl.)

Esmaeili Sharif, M. [1*], Hosseini Nasr, S. M. [2], Ghamari Zare, A. [3] and Talebi, M.[4]

1*- Corresponding author, Assist Prof., Research Division of Natural Resources, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization, AREEO, Isfahan, I.R.Iran
E-mail: m.esmaeilisharif@areeo.ac.ir
2-Assoc. Prof. Department of Forestry, Faculty of Natural Resources, Sari Agricultural Sciences and Natural Resources University (SANRU), Sari, I.R. Iran.
3-Assoc. Prof., Biotechnology Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Education and Extension Organization, AREEO, Tehran, I.R. Iran.
4-Assoc. Prof., Biotechnology Department, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, I.R. Iran.

Received: 21.11.2017 Accepted: 15.01.2018

Abstract

Iranian mountain ash (*Sorbus persica* Hedl.) is one of the endangered species with great values in terms of soil conservation, climate stratification, medicinal properties, high resistance to frost, and importance of habitat for wildlife. Present research was conducted with the aim of achieving to an appropriate method of micropropagation of the species. Nodal segments were taken from stem axis of *in vitro* elongated plants. The segments were cultured on WPM medium, supplemented with 27 hormonal composition of BAP, IBA and TDZ. Then the resulting shoots were transferred to a media supplemented with various concentrations of IBA or NAA for rooting induction, and finally they were moved to a greenhouse. Percentages of regeneration of the explants were 98 -100%. The highest number of shoots was obtained by TDZ (0.23 µM) + IBA (0.1 µM) and BA (4.4 µM), the highest shoot length (5.2 cm) was obtained by TDZ (0.0 µM) + IBA (0.0 µM) and BA (4.4 µM) and the highest number of nodes (8) was achieved by TDZ (0.23 µM) + IBA (0.0 and 0.1 µM) and BA (2.2 and 4.4 µM). There was a significant difference between IBA concentrations in different treatments for rooting percentage. Maximum rooting percentage was 14.7% in IBA concentration of 5 µm. The rooted segments were successfully acclimated to greenhouse conditions. Results of the experiment showed that in the absence of BAP hormone, umber of shoots produced by the segments significantly were decreased for all of the tested treatments. Fifteen percent of the transferred explants to the rooting media produced one to three roots per explant.

Keywords: Auxin, cytokinin, organogenesis, *Sorbus persica* Hedl., tissue culture

Archive of SID

www.SID.ir