جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۵ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۲
صفحه‌های ۱۱۵-۱۰۳

بهینه‌سازی کشت درون‌شیشه‌ای پایه‌های رویشی تترا، نماگارد و GF677

مریم تاتاری*[۱]، اصغر موسوی[۲]

۱. کارشناس پژوهشی، بخش تحقیقات باغبانی، مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال و بذر، کرج
۲. استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۱/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۲/۹/۱۱

چکیده

با توجه به مشکلات ناشی از کاربرد پایه‌های بذری و غیریکنواخت در باغ‌های درختان میوهٔ هسته‌دار، استفاده از پایه‌های یکنواخت و سازگار با این درختان الزامی است. به منظور تعیین بهترین محیط کشت، ریزنمونه‌های جوانهٔ انتهایی و جوانه‌های جانبی پایه‌های تترا، نماگارد و GF677 در اواسط بهار تهیه شدند و پس از گندزدایی، در شرایط درون‌شیشه‌ای روی محیط‌های کشت MS تغییریافته، WPM و Knop هر کدام دارای ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید قرار گرفتند. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملاً تصادفی با چهار تکرار و چهار نمونه در هر تکرار به اجرا درآمد. طبق نتایج، پایه‌های تترا، GF677 و نماگارد به‌ترتیب بیشترین تعداد گیاهچه را تولید کردند. پایهٔ نماگارد در محیط کشت Knop، هیچ پرآوری را به همراه نداشت. ریزنمونه‌های نماگارد در این محیط کلروز شدند. این محیط کشت به ایجاد کلروز در گیاهچه‌های حاصل از ریزنمونهٔ تترا منجر شد. ریزنمونه‌های هر سه پایه در محیط MS تغییریافته، بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کردند، بنابراین، تیمار ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد روی محیط MS تغییریافته ارزیابی شد. به منظور تعیین بهترین ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد، سه ترکیب مختلف ارزیابی و بررسی شد. ترکیب هورمونی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کردند. افزایش غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد به میزان ۰/۸ و ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به شیشه‌ای‌شدن و تولید کالوس در پایهٔ GF677 منجر شد. در هر سه ریزنمونه بیشترین تعداد ریشه و درصد ریشه‌زایی در محیط MS تغییریافته با ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید حاصل شد. پایهٔ تترا بیشترین تعداد و طول ریشه را تولید کرد..

کلیدواژه‌ها: پایه‌های هسته‌داران، پرآوری، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، ریشه‌زایی، محیط کشت.

* نویسنده مسئول
Email: mtatari1@gmail.com

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

۱. مقدمه

اغلب پایه‌های مورد استفاده برای درختان میوهٔ هسته‌دار در ایران بذری است و درختان روی این پایه‌ها از نظر رشد رویشی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها (به دلیل تأثیر متقابل پایه و پیوندک) یکسان نیستند و این امر باعث مشکلاتی همچون عمر کوتاه درختان هلو، خشک‌شدن درختان گیلاس و عدم یکنواختی رشد درختان می‌شود. در پایه‌های رویشی درختان میوهٔ هسته‌دار که نتیجهٔ ازدیاد پایه‌ها به روش‌های غیرجنسی است، خصوصیات گیاه مادری به‌طور کامل منتقل می‌شود و این ویژگی خاصی است که در نهال‌های حاصل از بذر به‌ویژه در گونه‌هایی دیده نمی‌شود که دگرگشن هستند. علاوه بر این باغ‌های احداث‌شده با پایه‌های رویشی در مقایسه با پایه‌های بذری، محاسنی همچون یکنواختی اندازهٔ درخت، کنترل رشد، مدیریت کارا در برنامه‌های داشت و برداشت در باغ، مقاومت در برابر آفات و بیماری‌ها، کیفیت بهتر، کشت متراکم و افزایش عملکرد در واحد سطح دارند. این دامنهٔ وسیع کارایی پایه‌های رویشی سرانجام به کاهش هزینه‌های تولید و ایجاد درآمد بالاتر برای باغدار منجر می‌شود [۵].

پایهٔ رویشی تترا که بر اثر گرده‌افشانی آزاد آلو به‌دست آمده است، نسبت به پایه‌های رویشی هیبرید هلو ـ بادام، قدرت کمتری را به پیوندک القا می‌کند. این پایه به رطوبت بالای خاک و به خاک‌های آهکی مقاومت دارد و پاجوش نیز تولید نمی‌کند. با پیوندک‌های هلو، شلیل، زردآلو، آلو و بادام به‌خوبی سازگار است [۲۷]. نماگارد یک هیبرید بین گونه‌ایی[1] است و مقاومت این پایه به نماتد مولد غدهٔ ریشه[2] دلیل اصلی برای استفادهٔ گسترده از آن در نواحی با زمستان‌های ملایم و خاک‌های شنی است. نماگارد به‌عنوان پایه برای بادام، هلو و شلیل، زردآلو و آلو به‌کار می‌رود. این پایه نیمه‌پاکوتاه است و پاجوش خیلی کمی تولید می‌کند [۲]. در حال حاضر، شناخته‌شده‌ترین پایهٔ رویشی درختان میوهٔ هسته‌دار در ایران پایهٔ رویشی GF677 است. این پایه به کمبود آهن مقاوم و برای خاک‌های با حاصلخیزی ضعیف و مقادیر بالای کربنات کلسیم[3] مناسب است [۱۹].

در سال‌های اخیر، ریزازدیادی پایه‌ها و گونه‌های مختلف جنس پرونوس از ابعاد گوناگون مانند تأثیر محیط کشت‌های مختلف بر رشد ریزنمونه [۱٤، ۱۵، ۱۷، ۲٦]، تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد [۷، ۱۰،۱٤]، تأثیر ویتأمین‌ها و پرولین [۹، ۱۰]، مقایسهٔ منابع مختلف آهن در محیط کشت [۱۸] و مقایسهٔ درصدهای مختلف ساکارز [۱۷] مطالعه و ارزیابی شده است. تاکنون، توجه زیادی به پایه‌های رویشی در باغ‌های درختان میوهٔ هسته‌دار نشده است و بیشتر این درختان روی پایه‌های بذری استقرار یافته‌اند. این پایه‌های رویشی کمتر شناخته شده و در دسترسند. با توجه به خصوصیات پایه‌های رویشی تترا و نماگارد و طیف وسیع سازگاری آن‌ها و نیز با توجه به ضرورت ایجاد تنوع در پایه‌های موجود قابل استفاده برای احداث باغ‌های درختان میوهٔ هسته‌دار، در این تحقیق تأثیر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای دستیابی به محیط کشت مناسب برای ریزازدیادی پایه‌های رویشی تترا و نماگارد که برای احداث باغ‌های یکنواخت درختان میوهٔ هسته‌دار مناسب است، بررسی و مطالعه شد و ازدیاد درون‌شیشه‌ای این دو پایه با پایهٔ رویشی GF677 مقایسه شد.

1. Prunus pessica×P. davidiana
2. Meloidogyne javanica
3. CaCO3

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جدول ۱. مقدار عناصر پرمصرف، کم‌مصرف و ویتامین‌ها در محیط کشت ساقه‌زایی MS تغییریافته

محیط کشت	مقدار (mg/l)	عناصر کم‌مصرف	مقدار (mg/l)	ویتامین‌ها	مقدار (mg/l)
NH_4NO_3	٤٠٠	H_3BO_3	٦/٢	Pyridoxine*HCl	٠/٥
KNO_3	٢١٠٠	$CuSO_4*5H_2O$	٠/٢٥	Ascorbic acid	١٠
$MgSO_4*7H_2O$	٣٦٠	$MnSO4*H_2O$	١٦/٩	Nicotinic Acid	٠/٥
KH_2PO_4	٢٧٠	$ZnSO_4*7H_2O$	٨/٦	Thiamine *HCl	١
$Ca(NO_3)_2*4H_2O$	١٢٠٠	$Na_2MoO_4*2H_2O$	٠/٢٥	Glycin	٢
		KI	٠/٨٣	مواد مکمل	مقدار (mg/l)
		$COCl_2$	٠/٠٢٥	Pectine	٠/٢
		$FeSO4*7H_2O$	٢٧/٨		
		Na_2EDTA	٣٧/٣		

۲. مواد و روش‌ها

۱.۲. مواد گیاهی و آماده‌کردن ریزنمونه

پایه‌های GF677 و نماگارد از کلکسیون پایه‌های رویشی درختان میوهٔ هسته‌دار واقع در ایستگاه تحقیقات کمال‌آباد بخش تحقیقات باغبانی تهیه شدند. این درختان سه‌ساله بودند و بین ۲ تا ۲/۵ متر ارتفاع داشتند. ریزنمونه‌های تترا نیز از نهال‌های یکسالهٔ گلدانی تهیه شدند که در شرایط گلخانه قرار داشتند. شاخه‌های نیمه‌خشبی حاصل از رشد سال جاری این پایه‌ها در اواسط بهار از درختان مادری جدا و به آزمایشگاه منتقل شدند. ریزنمونه‌های جوانهٔ انتهایی و جوانه‌های جانبی پایه‌های مورد مطالعه در محلول ۵۰ درصد وایتکس، با ۲/۵ درصد مادهٔ مؤثر، به مدت ۱۵ دقیقه گندزدایی شدند. پس از شست‌وشو با آب مقطر استریل، دو انتهای سفیدشدهٔ نمونه برش داده شد و در محیط کشت قرار گرفت.

۲.۲. ترکیب محیط کشت و پرآوری

این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل که در قسمت انتخاب محیط کشت دو فاکتور نوع پایه و محیط کشت هر کدام در سه سطح و در قسمت انتخاب تنظیم‌کننده‌های رشد دو فاکتور نوع پایه و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد هر کدام در سه سطح با چهار تکرار در قالب طرح پایهٔ کاملاً تصادفی به اجرا درآمد، به‌طوری که هر تکرار دارای چهار مشاهده بود. ریزنمونه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای و در محیط کشت MS[1] [۲۰] تغییریافته، WPM[2] [۲۵] و Knop [۱٦]، هر کدام حاوی ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین[2] و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید قرار گرفتند. مواد تشکیل‌دهندهٔ محیط کشت MS تغییریافته (جدول ۱) با افزایش، کاهش یا بدون تغییر در میزان عناصر غذایی محیط کشت پایهٔ MS و نیز تغییر منبع تأمین کلسیم آن همراه بود. پس از دو هفته، پایه‌های استقراریافته به منظور پرآوری در همین محیط‌ها بازکشت شدند. بعد از دو تا سه مرحله واکشت به فاصلهٔ زمانی ٤ هفته، پرآوری نمونه‌ها

1. Murashige and Skoog
2. Woody Plant Medium

شـمارش شـد. پـس از انتخـاب بهتـرین محـیط کـشت، گیاهچه‌ها به غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بنزیل آدنـین و نفتـالین اسـتیک اسـید (ترکیـب اول (MS1): ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتـالین استیک اسید، ترکیب دوم (MS2): ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید، ترکیب سوم (MS3): ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنـین و ۰/۵ میلـی‌گـرم در لیتر نفتـالین اسـتیک اسـید) بـرده شـدند تـا بهتـرین ترکیـب هورمونی تعیین شود. هر ٤ هفته یک‌بار، گیاهچه‌هـا بازکـشت شدند. تعداد گیاهچه پرآوری‌شده و نیـز طـول گیاهچـه‌هـای پرآوری‌شده ثبت شد. داده‌های مربوط به انتخاب محیط کشت با تبدیل ($X=\sqrt{Y+0.5}$) نرمال شد.

۳.۲. ریشه‌زایی

به منظور ریشه‌زایی نیـز از محـیط کـشت MS تغییـریافتـه (مشابه محیط مطلوب پرآوری) حاوی ۱ میلی‌گـرم در لیتـر اینول بوتیریک اسید و یا ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین اسـتیک اسید استفاده شد. گیاهچه‌های پرآوری‌شده با طول حدود ۲ تا ۳ سانتی‌متر وارد چرخهٔ ریشه‌زایی شدند. این گیاهچه‌هـا پس از قرارگرفتن در محیط کشت ریشه‌زایی، بـه مـدت ۱ هفته در شرایط اتاق رشد تاریک قرار گرفتند و پـس از آن به شرایط ١٦ ساعت روشنایی و ۸ سـاعت تـاریکی منتقـل شدند. تعداد و طول ریـشه‌هـای تولیـدشـده و نیـز درصـد ریشه‌زایی ثبت شد. گیاهچه‌ها پس از ۲ تا ٤ هفتـه از درون ظروف کشت بیرون آورده شدند و آگار موجود در اطـراف ریشه‌ها شسته شد و به گلـدان‌هـای پلاسـتیکی بـا قطـر ۷ سانتی‌متر منتقل شدند که محتوی مخلوط حجمـی (۱:۲:۲) از پیت ماس، کوکوپیت و پرلایت بودند. روی گلدان‌هـا بـا پاکت سلوفان پوشـانده شـد. هـر روز بـا برداشـتن پاکـت سلوفان به مدت چند دقیقه، گیاهچه‌ها هوادهی شدند و بـا گذشت زمان مدت هوادهی طـولانی‌تـر شـد و در نهایـت، پس از گذشت ٤ هفته پاکت سلوفان برداشته شد و پـس از گذشت ٦ هفته، گیاهچه‌هـا بـه خـاک انتقـال یافتنـد. ایـن پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو فاکتور نوع پایـه در سه سطح و تنظیم‌کننده‌های رشد در دو سطح در قالـب طرح پایهٔ کاملاً تصادفی با چهـار تکـرار بـه اجـرا درآمـد، به‌طوری که هر تکرار دارای چهار مـشاهده بـود. داده‌هـای مربـوط بـه ریـشه‌زایـی درون‌شیـشه‌ای نرمـال شـد ($X=\sqrt{Y+0.5}$) و سپس، با استفاده از نرم‌افزار آمـاری SAS تجزیـه شـد و مقایـسهٔ میـانگین‌هـا بـا اسـتفاده از آزمـون چنددامنه‌ایی دانکن انجام شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. محیط کشت

جدول تجزیهٔ واریانس اثر پایهٔ رویشی، محیط کشت و اثـر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده در جدول ۲ و نتایج مربوط به اثر متقابل پایهٔ رویشی و محیط کشت بر صـفات اندازه‌گیری‌شده در جدول ٤ آمده است.

نتایج نشان داد که هر سه پایهٔ رویشی در محیط کـشت MS تغییریافته بیـشترین تعـداد و طـول گیاهچـه را تولیـد کردند. پایهٔ رویشی نماگارد در محیط کـشت Knop، هـیچ پرآوری را به همراه نداشـت و ریزنمونـهٔ نماگـارد در ایـن محیط دچار کلروز شد. همچنین، این محیط کشت به ایجاد کلروز در گیاهچه‌های حاصل از ریزنمونه تترا منجر شد، به نحوی که گیاهچه‌های پرآوری‌شده زرد بودند. محیط کشت می‌تواند در رشد درون‌شیشه‌ای گیاهان بـسیار مـؤثر باشـد [۲۳]. در کشت درون‌شیشه‌ای، ترکیب محـیط کـشت روی رشد گیاهچه مؤثر است و این تأثیر بر اثر ترکیب نمک‌های موجود در محیط کشت ایجاد می‌شود [٢٦] انـواع مختلـف ناهنجاری رشد، نظیر کلروز برگ‌ها، بافت مرده‌شدن انتهای برگ‌ها، آبکی‌شدن و قهوه‌ای‌شدن بافت‌ها به نحوی با نـوع محیط کشت در ارتباطنـد [۱]. بـا توجـه بـه اینکـه محـیط

کشت MS تغییریافته برخلاف محیط کشت WPM بدون یون کلر است، مواد گیاهی در این محیط کمتر دچار زردی شد و پایداری گیاهچه‌ها افزایش یافت. در محیط‌هایی که میزان یون کلر افزایش می‌یابد، تعادل گیاهچه در جذب عناصر مختلف به هم می‌خورد [٤]. محیط کشت MS تغییریافته نسبت به دو محیط دیگر دارای مقدار کلسیم بیشتری است که در پایداری و استحکام گیاهچه‌ها نقش دارد. البته در محیط کشت MS تغییریافته غلظت مواد دیگر نیز تغییر کرده است که این تغییرات به سهم خود در رشد مطلوب گیاه تأثیر مثبت داشته است (جدول ۳). غلظت عناصر غذایی ازت، پتاسیم و منیزیوم در محیط کشت Knop کمتر از دو محیط دیگر بود و غلظت همهٔ عناصر پرمصرف در این محیط کشت کمتر از محیط MS تغییریافته بود که این امر در کاهش پرآوری در این محیط کشت تأثیرگذار است. غلظت عناصر میکرو در محیط‌های ارزیابی‌شده اختلاف چندانی نداشت.

به نظر می‌رسد آسکوربیک اسید به‌کاررفته در محیط کشت MS تغییریافته و مادهٔ مکمل پکتین نیز در ارجحیت این محیط کشت بر سایر محیط‌ها اثرگذار بوده است. محیط کشت Knop محیط فقیری است و غلظت بعضی از عناصر در آن چندین برابر کمتر از سایر محیط‌ها است. هرچند محیط کشت MS تغییریافته مطلوبیت بیشتری داشت، تعداد گیاهچه حاصل از نماگارد در این محیط کشت قابل قبول نبود. در ارتباط با مطلوب‌ترین محیط کشت و غلظت‌های مختلف نمک‌ها در کشت درون‌شیشه‌ای پایه‌ها و ارقام درختان میوه گزارش‌های متعددی موجود است که بسته به ژنوتیپ و شرایط کشت نتایج متفاوتی گزارش شده است. در کشت درون‌شیشه‌ای چندین رقم زردآلو، بهترین نتایج در محیط کشت QL[1] و عناصر ماکروی WPM تغییریافته حاصل شد [۲۱]. ترکیب محیط کشت روی میزان پرآوری و ازدیاد پایه‌های هسته‌دار تأثیر داشت، به‌طوری که پس از انجام ۹ زیرکشت، تعداد شاخساره روی محیط QL در مقایسه با محیط MS و WP به‌طور معنی‌داری کاهش یافت [۸]. در پژوهشی [۱۵] مشخص شد که محیط کشت MS سبب طویل‌شدن برگ می‌شود و برگ‌ها علائم کمبود را نشان دادند و در نهایت، از بین رفتند و پرآوری مطلوب از محیط کشت Knop تغییریافته به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید حاصل شد، در حالی که، در این تحقیق محیط کشت Knop به دلیل فقیربودن از نظر نمک‌های موجود، کمترین پرآوری و بیشترین کلروز را نشان داد. اثر محیط‌های کشت پایه مختلف و غلظت سیتوکنین روی پرآوری زردآلوی کانینو[2] بررسی شد. شاخساره‌های سالم‌تر و سبزتر روی محیط کشت WP تغییریافته ایجاد شدند [۲۲]. به نظر می‌رسد با کاربرد محیط‌های کشت تغییریافته نتایج بهتری حاصل می‌شود.

عملکرد محیط کشت به ژنوتیپ نیز بستگی دارد. در بادام رقم نان پاریل، محیط کشت AP، محیط کشت مناسبی بود، در صورتی که برای رقم نی پلوس اولترا، محیط کشت MS پرآوری مطلوبی را به دنبال داشت [۱۱]. در این پژوهش نیز پایهٔ رویشی تترا پرآوری مطلوب‌تری را نسبت به دو پایهٔ دیگر نشان داد. محیط مناسب کشت برای ازدیاد و ریشه‌دهی پایه‌های مختلف یک جنس نیز می‌تواند متفاوت باشد [۱۰].

به‌طور کلی با توجه به اینکه، محیط کشت MS تغییریافته در همهٔ پایه‌های رویشی بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کرد، بنابراین، بازکشت‌ها در این محیط کشت ادامه پیدا کرد.

1. Quoirin and Lepoivre

2. Canino

جدول ۲. تجزیهٔ واریانس اثر پایهٔ رویشی، محیط کشت و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری‌شده (MS)	
		میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده	میانگین طول گیاهچه‌ها (سانتی‌متر)
پایهٔ رویشی	۲	۲/۰۳**	۱/۱۹**
محیط کشت	۲	۵/۸٤**	۵/۷۲**
پایهٔ رویشی×محیط کشت	٤	۰/۵۳**	۰/۳۲*
خطای آزمایشی	۷۲	۰/۱۲	۰/۰۹
کل	۸۰	–	–
ضریب تغییرات (CV%)		۲۸/٦۷	۲٤/۷۷

**: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد. *: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد.

جدول ۳. مقایسهٔ مقدار عناصر پرمصرف در سه محیط کشت بررسی‌شده بر حسب میلی‌مول در لیتر

عنصر غذایی	محیط کشت MS تغییریافته	محیط کشت WPM	محیط کشت Knop
ازت	٤۵/٦۸	۱۷/۰۳	۱٤/٦۷
پتاسیم	۲۲/۵۹	۱۲/٦۲	٤/۳۱
منیزیوم	۳	۳/۰۸	۲/۰۸
گوگرد	۳	۸/۷۷	۲/۰۸
فسفر	۱/۹۸	۱/۲۵	۱/۸۳
کلسیم	۷/۳۱۷	٤/۲٦	٦/۰۹
کلر	–	۱/۷۵	–

جدول ٤. مقایسهٔ میانگین اثر متقابل پایهٔ رویشی و محیط کشت بر صفات اندازه‌گیری‌شده±SD †

پایهٔ رویشی	محیط کشت	میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده	میانگین طول گیاهچه‌ها (سانتی‌متر)
GF677	Knop	۰/۲۲± ۰/۲۲ef	۰/۲۵± ۰/۲٤e
GF677	MS	۲/۲۲± ۰/۵۹b	۱/٤۷± ۰/٤۱c
GF677	WPM	۰/٤٤± ۰/۳۳e	۰/۲۵± ۰/۲٤e
نماگارد	Knop	۰± ۰f	۰± ۰e
نماگارد	MS	۱/۲۲± ۰/۱۵c	۲/۷۷± ۰/۲٦b
نماگارد	WPM	۰/۷۷± ۰/٤٤d	۱/۱٦± ۰/۵۷d
تترا	Knop	۰/٤٤± ۰/۳۳e	۰/۲۷± ۰/۲۲e
تترا	MS	۵/۱۱± ۰/٤٦a	۳/۵۲± ۰/۲۱a
تترا	WPM	۱/۳۳± ۰/۱۸c	۱/۵۵± ۰/۱٤c

† انحراف معیار

۲.۳. ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر پایهٔ رویشی، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده در جدول ۵ نشان داده شده است.

نتایج نشان داد که پایه‌های رویشی تترا و نماگارد به‌ترتیب بیشترین و پایهٔ رویشی GF677 کمترین طول گیاهچه را داشتند (شکل ۱). بهترین تیمار برای شاخه‌زایی و پرآوری، محیط کشت MS1 با ترکیب ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید بود که در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌داری با سایر ترکیبات داشت. بیشتر تنظیم‌کننده‌های رشد استفاده‌شده برای پرآوری گونه‌ها و پایه‌های پرونوس روی محیط کشت‌های حاوی بنزیل آدنین و اکسین (ایندول بوتیریک اسید، ایندول استیک اسید و نفتالین استیک اسید) است. در برخی گزارش‌ها بنزیل آدنین به تنهایی برای پرآوری گیاهچه پایه‌های هیبرید مناسب بودند [۱۱، ۲۹]. در مقابل پایه‌های لاول و نماگارد برای پرآوری به ترکیب بنزیل آدنین و ایندول بوتیریک اسید نیاز داشتند [٦].

استفاده از محیط کشت MS3 (حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید) کمترین میانگین طول گیاهچه را به دنبال داشت (شکل ۲). غلظت بالاتر بنزیل آدنین سبب کاهش شاخساره و به‌ویژه کاهش طول شاخساره شد. طبق گزارشی کاهش رشد شاخساره با پریدگی رنگ برگ‌ها همراه است که می‌تواند به دلیل رقابت بین شاخساره‌ها و اثر نامطلوب غلظت بالای بنزیل آدنین و به‌هم‌خوردن تعادل هورمونی داخل ریزنمونه‌ها باشد [۲۸،۳]. وقتی غلظت بنزیل آدنین از حد مورد نیاز افزایش یابد، گیاه به دلیل جذب زیاد سیتوکنین از حالت طبیعی خارج می‌شود و برگ‌ها زرد و لوله‌ایی می‌شوند [٤]. افزایش غلظت بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید در پایه‌های تترا و GF677 به کاهش پرآوری پایه‌های رویشی منجر شد، در حالی که، در افزایش درون‌شیشه‌ای پایه‌های پاکوتاه گیلاس، پرآوری بهینه در محیط حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین حاصل شد [۱۳].

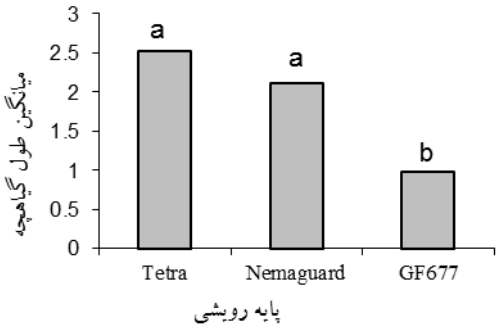
در پژوهشی [۱۵] محیط مناسب برای پرآوری پایهٔ GF677، محیط MS حاوی ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید گزارش شد که به غلظت‌های مطلوب بنزیل آدنین و نفتالین استیک اسید در تحقیق حاضر نزدیک است. بیشترین پرآوری شاخساره آلوی بیستریکا روی محیط کشت MS با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید حاصل شد [۷]. در بادام ارقام نان پاریل و نی پلوس اولترا، افزایش بنزیل آدنین تا ۲۰ میکرومول به تنهایی یا در ترکیب با ایندول بوتیریک اسید به شیشه‌ای‌شدن و افزایش شاخه‌های هایپرهیدریک[1] منجر شد [۱۱]. در این تحقیق نیز افزودن ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید به محیط کشت، تولید کالوس و نیز شیشه‌ای‌شدن را به همراه داشت. هایپرهیدریسیتی[2] مشکلی رایج در ریزازدیادی است. گیاهان هایپرهیدریک کلروفیل کمی دارند و شکننده و ترد هستند. داشتن میان گره‌های کوتاه، برگ‌های ضخیم، کوتیکول نازک و تولید اتیلن از مشخصه‌های این گیاهان است. هایپرهیدریسیتی با غلظت و نوع عامل ژل‌کننده محیط، ظرف کشت که می‌تواند بر تبادل گازها و غلظت بخار آب، دی‌اکسید کربن و اتیلن مؤثر باشد، دما، نور و رطوبت نسبی محیط داخل و خارج از ظرف کشت، نوع ریزنمونه و نوع محیط کشت در ارتباط است [۱۲]. به نظر می‌رسد در پایهٔ GF677 غلظت بالای نفتالین استیک اسید و بنزیل آدنین به ترتیب تولید کالوس و شیشه‌ای‌شدن را به همراه داشته است.

1. Hyperhydric
2. Hyperhydricity

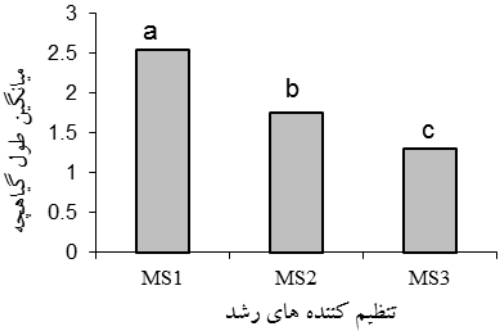
جدول ۵. تجزیهٔ واریانس اثر پایهٔ رویشی، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری‌شده (MS)	
		میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده	میانگین طول گیاهچه‌ها (سانتی‌متر)
پایهٔ رویشی	۲	۳/۵۲**	۲/۴۳**
تنظیم‌کننده	۲	۱/۶۷**	۱/۱۲**
پایهٔ رویشی×تنظیم‌کننده	٤	۰/٤۳*	۰/۰۷ns
خطای آزمایشی	۷۲	۰/۱۳	۰/۰۹
کل	۸۰	–	–
ضریب تغییرات (CV%)		۲۵/۳۲	۲۰/۳٦

**: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد. *: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد. ns: بدون اختلاف معنی‌دار



شکل ۱. اثر پایهٔ رویشی بر میانگین طول گیاهچه



شکل ۲. اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر میانگین طول گیاهچه (سانتی‌متر)

جدول ٦. مقایسهٔ میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده تحت تأثیر پایهٔ رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد± SD

پایهٔ رویشی	تنظیم‌کننده رشد	میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده
GF677	MS1†	۲/۲۲± ۰/۵۹c
GF677	MS2††	۰/۷۷± ۰/٤۲f
GF677	MS3†††	۰/۵۵± ۰/۳۳f
نماگارد	MS1	۱/٤۵± ۰/۳۱e
نماگارد	MS2	۱/۳۲± ۰/۱۵e
نماگارد	MS3	۱/۲۲± ۰/۱۱e
ترا	MS1	۵/۱۱± ۰/٤٦a
ترا	MS2	۲/۷۷± ۰/۳٦b
ترا	MS3	۱/۷۷± ۰/۲۷d

† ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA †† ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA
††† ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA

مقایسهٔ میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده تحت تأثیر پایهٔ رویشی و تنظیم‌کننده‌های رشد (جدول ٦) نشان داد که پایه‌های رویشی GF677 و تترا در محیط MS تغییریافته با ترکیب اول (٠/٦ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ٠/٠١ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید)، بیشترین تعداد گیاهچه را تولید کردند. در پایهٔ رویشی نماگارد اختلاف معنی‌داری در تعداد گیاهچه پرآوری‌شده از بین سه ترکیب به‌کاررفته، مشاهده نشد، بنابراین، استفاده از غلظت کمتر تنظیم‌کننده‌های رشد برای افزونگری آن توصیه‌شدنی است. پایهٔ رویشی GF677 در محیط‌های MS2 و MS3، تولید کالوس کرد و شیشه‌ای‌شدن را به همراه داشت.

۳.۳. ریشه‌زایی درون‌شیشه‌ای

نتایج تجزیهٔ واریانس اثر پایه، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده در جدول ۷، اثر پایهٔ رویشی بر طول و تعداد ریشه در جدول ۸ و اثر محیط کشت بر میانگین تعداد ریشه در شکل ۳ آمده است. نتایج نشان داد که استفاده از غلظت مشابه نفتالین استیک اسید در ریشه‌زایی پایه‌های مورد مطالعه مؤثرتر از ایندول بوتیریک اسید بود (شکل‌های ۷، ۸، ۹). در این تحقیق به منظور ریشه‌زایی پایه‌ها از ایندول استیک اسید[1] استفاده نشد، اما در پژوهشی گزارش شد که ایندول استیک اسید به غلظت ٤ میلی‌گرم در لیتر تأثیری در القای ریشه‌زایی نداشت و بهترین شرایط برای القای ریشه‌دهی محیط حاوی ٤ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید و تیمار تاریکی بود [٢٤]. در پژوهش‌های دیگری غلظت ٦/٥ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید برای ریشه‌زایی پایهٔ سخت ریشه‌زایی گزارش شد که حاصل تلاقی طبیعی زردآلو و گوجه بود [١]. در مقابل پایهٔ رویشی محلب در محیط کشت بدون تنظیم‌کننده‌های رشد بیشترین ریشه‌زایی را به همراه داشت [٥].

جدول ۷. تجزیهٔ واریانس اثر پایه، تنظیم‌کننده‌های رشد و اثر متقابل آن‌ها بر صفات اندازه‌گیری‌شده

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات صفات اندازه‌گیری‌شده (MS)			
		میانگین تعداد ریشه	میانگین طول ریشه (سانتی‌متر)	میانگین تعداد گیاهچه پرآوری‌شده	میانگین درصد ریشه‌زایی
پایهٔ رویشی	۲	۱/۳٦**	٤/٧٨**	۰/۰۳ns	۲/۹۸**
تنظیم‌کننده	۱	۱/۳۸*	۰/۲۹ns	۰/۰۳ns	۱/۲۳ns
پایهٔ رویشی×تنظیم‌کننده	۲	۰/٤٤ns	۰/٥٨ns	۰/۰۳ns	۰/۱٥ns
خطای آزمایشی	٤۹	۰/۱۹	۰/۲۲	۰/۰۱	۰/۱۱
کل	٥٤	–	–	–	–
ضریب تغییرات (CV%)		۲۸/۰٦	۲۳/۲	۱۷/٤٤	۱۸/۲۳

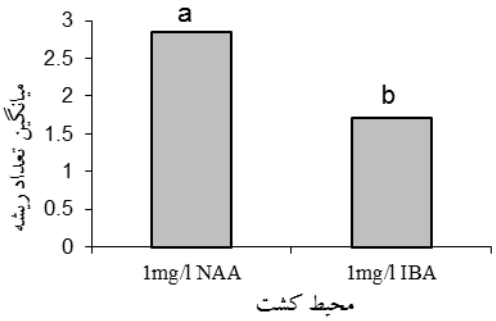
**: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد. *: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ٥ درصد. ns: نبودن اختلاف معنی‌دار

جدول ۸. مقایسهٔ میانگین تعداد و طول ریشه تحت تأثیر پایهٔ رویشی± SD †

پایهٔ رویشی	میانگین تعداد ریشه	میانگین طول ریشه	میانگین درصد ریشه‌زایی
GF677	۲/٤٤±۰/٤٥a	۱/۷۹±۰/۳۵b	۵۸±۰/۲۱b
نماگارد	۱/۲٦±۰/۲۲b	٤/٦۳±۰/٦۵a	۲۲±۰/۱٤c
تترا	۳/۱٦±۰/٦٤a	۵/٦٦±۰/۵۹a	۷۵±۰/٤٤a

†انحراف معیار

با وجودی که معمولا استفاده از نفتالین استیک اسید در محیط ریشه‌زایی به ایجاد پینه[1] نیز منجر می‌شود، اما در این آزمایش گیاهچه‌های قرارگرفته در محیط کشت حاوی نفتالین استیک اسید پینه‌زایی نکردند و تعداد ریشهٔ بیشتری نیز تولید کردند (شکل ۳) و کیفیت مطلوبی داشتند (شکل‌های ۷، ۸، ۹). هورمون‌های طبیعی و درون‌زا در نهایت، می‌توانند ریشه‌زایی بهتری را القا کنند [۵]. ممکن است مقدار هورمون‌های ریشه‌زایی درون‌زا در پایه‌های مورد آزمایش در حدی نباشد که با همکاری تنظیم‌کننده‌های رشد به‌کاررفته، به ایجاد پینه منجر شود.



شکل ۳. اثر محیط کشت بر میانگین تعداد ریشه

شکل ٤. GF677 در مرحلهٔ پرآوری

1. Callus

شکل ۵. تترا در مرحلهٔ پرآوری

شکل ٦. نماگارد در مرحلهٔ پرآوری

شکل ۷. GF677 در مرحلهٔ ریشه‌زایی

شکل ۸. تترا در مرحلهٔ ریشه‌زایی

شکل ۹. نماگارد در مرحلهٔ ریشه‌زایی

۴.۳. نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، محیط کشت MS تغییریافته با ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید برای ریزازدیادی این پایه‌ها مطلوب‌تر از سایر محیط کشت‌ها و ترکیب تنظیم‌کننده‌های به‌کاررفته در این پژوهش بود. پایهٔ رویشی تترا نیز نسبت به دو پایهٔ دیگر پرآوری بالاتری را نشان داد. با توجه به دامنهٔ وسیع سازگاری پایهٔ تترا از یک طرف و نیاز به داشتن باغ‌های یکنواخت درختان میوهٔ هسته‌دار از طرف دیگر، ازدیاد موفق درون‌شیشه‌ای این پایه می‌تواند نویدبخش باشد. در نهایت، پیشنهاد می‌شود سایر محیط‌های کشت پایه و تغییریافته و نیز دیگر ترکیبات تنظیم‌کننده‌های رشد برای پایه‌های نماگارد و GF677 بررسی و مقایسه شوند تا میزان پرآوری افزایش یابد. استفاده از غلظت‌های مختلف نفتالین استیک اسید و ایندول بوتیریک اسید و نیز ترکیب این دو در محیط ریشه‌زایی نیز می‌تواند به بهبود و افزایش طول و تعداد ریشه‌ها کمک کند.

تشکر و قدردانی

از مسئول واحد درختان میوهٔ هسته‌دار در بخش تحقیقات باغبانی مؤسسهٔ تحقیقات اصلاح و تهیهٔ نهال کرج، جناب آقای دکتر بوذری برای مساعدت در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

۱. ذوالفقاری نسب، ر؛ خسروشاهلی، م؛ گریگوریان، و؛ مطلبی‌آذر، ع؛ (۱۳۸۳). «بررسی افزایش درون‌شیشه‌ای دورگه طبیعی زردآلو×گوجه». *مجلهٔ علوم و فنون باغبانی ایران*. ۵، ۲، ص. ۹۲ـ۸۱.

۲. رادنیا، ح؛ (۱۳۷۵). *پایه‌های درختان میوه (ترجمه)*. نشر آموزش کشاورزی، وابسته به معاونت آموزش و تجهیز نیروی انسانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی. ۶۳۷ صفحه.

۳. شکافنده، ا؛ قاسمی، م؛ (۱۳۸۷). «بررسی اثرهای BA و TDZ بر رشد جوانه و رویان‌زایی بدنی لپه‌های نابالغ بادام (Prunus dulcis L.) دیر گل رقم ۷ شاهرود». *مجلهٔ علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)*. ۲،۲۲، ص. ۱۵۴ـ۱۴۷.

۴. کمالی، ک؛ مجیدی، ا؛ ضرغامی، ر؛ (۱۳۸۰). «تعیین مناسب‌ترین محیط کشت و شرایط رشد جهت ریزازدیادی پایه‌های رویشی GF677 (هیبرید هلو×بادام)». *مجلهٔ نهال و بذر*. ۳،۱۷، ص. ۲۴۳ـ۲۳۴.

۵. مهدویان، م؛ بوذری، ن؛ عبدالهی، ح؛ (۱۳۸۹). «اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری و ریشه‌زایی پایهٔ رویشی محلب (سنت لوسی ۶۴)». *مجلهٔ به نژادی نهال و بذر*. ۲۶، ۱، ص. ۲۶ـ۱۵.

6. Almehdi AA and Parfitt DE (1986) *In vitro* propagation of peach. 1. Propagation of ‘Lovell’ and ‘Nemaguard’ peach rootstocks. Fruit Varieties Journal. 40: 12-17.

7. Ambrozic B, Smole J and Sifter A (1992) Micropropagation of a plum ecotype (*prunus domestica* L.) as rootstock for apricot. Acta Horticulture. 300: 111-114.

8. Andreu P and Marin JA (2005) *In vitro* culture establishment and multiplication of the prunus

9. rootstock Adesoto 101 (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulture. 106: 258-267.

10. Antonopoulou C, Dimassi K, Therios I, Chatzissavvidis C and Papadakis I (2007) The effect of Fe-EDDHA and of ascorbic acid on *in vitro* rooting of the peach rootstock GF677 explants. Acta Physiologia Plantarum. 29: 559-561.

11. Battistini A and Paoli G (2002) Large scale micropropagation of several peach rootstocks. Acta Horticulture. 592: 29-33.

12. Channuntapipat CH, Sedgley M and Collins G (2003) Micropropagation of almond cultivars Nonpariel and NePlusUltra and the hybrid rootstocks Titan×Nemaguard. Scientia Horticulture. 98: 473-484.

13. Debergh P, Aitken-Christie J, Cohen D, Grout B, Von Arnold S, Zimmerman R and. Ziv M (1992) Reconsideration of the term 'vitrification' as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 30: 135-140.

14. Erbenova M, Paprstein F and Sedlak J (2001) *In vitro* propagation of dwarfed rootstocks for sweet cherry. Acta Horticulture. 560: 477-480.

15. Fotopoulos S and Sotiropoulos TE (2005) *In vitro* rooting of PR 204/84 rootstock (*Prunus persica×P. amygdalus*) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. Agronomy Research. 3: 3-8.

16. Kamali K, Majidi E and Zarghami R (2006) Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus×P. persica*). Plant Genetic and Breeding. 56: 175-177.

17. Lloyd G and McCown B (1980) Combined Proceedings of the International Plant Propagators Society. 421-427.

18. Modgil M, Gupta R and Thakur M (2010) *In vitro* rooting and hardening in apple rootstock EMLA111- influence of some factors. Acta Horticulture. 865: 339-344.

19. Molassiotis A, Dimassi N, Therios K and Diamantidis I (2003) Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF677 (*Prunus amygdalus×P.persica*) explants in vitro. Biologia Plantarum. 47: 141-144.

20. Monticalli S, Puppi G and Damiano C (2000) Effects of in vivo mycorrhization on micropropagated fruit tree rootstocks. Applied Soil Ecology. 15: 105-111.

21. Murashige T and Skoog F (1962) A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant Physiology. 15: 473-497.

22. Perez O, Burgos L and Burgos T (2000) Different media requirements for micropropagation of apricut cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture. 63: 133-141.

23. Perezm TO, Lopez JM, Egea L and Burgos L (2000) Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armenica* L.) cv. Canino. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 75: 283-286.

24. Pilar A and Marin JA (2005) *In vitro* culture establishment and multiplication of the Prunus rootstock 'Adesoto 101' (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulture. 106: 258-267.

25. Reeves DW, Couvillon GA and Horton BD (1985) Effect of gibberellic acid (GA3) on elongation and rooting of St. Julien A rootstock *in vitro*. Scientia Horticulture. 26: 253-259.

26. Reski R and Abel WO (1985) Induction of budding on chloronemata and caulonemata of the moss, *Physcomitrella patens*, using isopentenyladenine. Planta. 165: 354-358.

27. Ruzic D, Saric M, Cerovic R and Culafic L (2003) Contents of macroelements and growth of sweet cherry rootstock *in vitro*. Biology of Plants. 47: 463-465.

28. Silva AL, Rogalski M and Moraes LK (2003) *In vitro* establishment and multiplication of *prunus* rootstock. Revista Brasileira de Fruticultura. 25: 297-300.

29. Shekafandeh A and Khush-Khui M (2008) Effects of bud position and culture medium on shoot proliferation from nodal culture of two guava cultivars. Asian Journal of Plant Sciences. 7: 177-182.

30. Tabachnik L and Kester DE (1977) Shoot culture for almond and almond-peach hybrid clones *in vitro*. Horticultural Science. 12: 545-547.