Iranian Journal of Horticultural Science
Vol 50, No 4, Winter 2020 (851-864)
DOI: 10.22059/ijhs.2019.265187.1508

علوم باغبانی ایران
دورهٔ ۵۰، شمارهٔ ۴، زمستان ۱۳۹۸ (ص ۸۶۴-۸۵۱)

بررسی اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ریزازدیادی دو پایه جنس *پرونوس* (CAB 6P و JASPI)

ناصر بوذری[1*]، رامین شفیعی[2]، بتول حسین‌پور[3] و سیده سمانه حسینی[4]

۱. دانشیار، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
۲. دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران
۳. دانشیار، پژوهشکده کشاورزی، سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، تهران، ایران
٤. کارشناس ارشد مؤسسه تحقیقات باغبانی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۶/۲۵ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۰/۲۲)

چکیده

دو پایه رویشی CAB 6P و JASPI متعلق به جنس *Prunus*، از لحاظ پاکوتاه بودن بسیار قابل‌توجه می‌باشند. با توجه به اهمیت بالای استفاده از پایه‌های پاکوتاه در تولید تجاری درختان میوه و تکثیر انبوه آنها از طریق کشت بافت، این تحقیق با هدف مطالعه پرآوری، ریشه‌زایی و سازگاری این دو پایه و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی، شامل محیط کشت‌های MS و ½MS در ترکیب با غلظت‌های مختلف هورمون BA (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (صفر، ۰/۱ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) بر پرآوری و اثر محیط کشت‌های WPM و MS در ترکیب با غلظت‌های مختلف هورمون IBA و NAA (صفر، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) بر ریشه‌زایی دو پایه CAB 6P و JASPI انجام گرفت. براساس نتایج، محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA برای مرحله پرآوری هر دو پایه و محیط کشت WPM حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌ترتیب برای ریشه‌زایی دو پایه CAB 6P و JASPI توصیه می گردند.

واژه‌های کلیدی: پایه پاکوتاه، کشت بافت گیاهی، BA، IBA.

Effect of culture media and plant growth regulators on micropropagation of two *Prunus* rootstocks (CAB 6p and JASPI)

Naser Bouzari[1*], Ramin Shafiei[2], Batool Hosseinpour[3] and Seyedeh Samaneh Hosseini[4]
1. Associate Professor, Temperate and Cold Fruits Research Institute (TCFRI), Horticulture Science Research Institute, Karaj, Iran
2. Former M.Sc. Student, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran
3. Associate Professor, Institute of Agriculture, Department of Plant Production, Iranian Research Organization for Science and Technology (IROST), Tehran, Iran
4. M.Sc., Temperate and Cold Fruits Research Institute (TCFRI), Horticulture Science Research Institute, Karaj, Iran
(Received: Sep. 16, 2018- Accepted: Jan. 12, 2019)

ABSTRACT

The CAB 6P and JASPI rootstocks belongs to *Prunus* genus, are very noticeable in terms of dwarfing. Due to the importance of dwarf rootstocks in fruit trees commercial production and also their mass propagation by tissue culture, this research was conducted to study the proliferation, rooting and acclimatization of these rootstocks. A factorial experiment was carried out based on a completely randomized design, including the effect of MS and ½ MS media in combination with different concentrations of BA (0, 0.5, 1 and 1.5 mg/l) and IBA (0, 0.1 and 0.2 mg/l) on proliferation and also the effect of WPM and MS media in combination with different concentrations of IBA and NAA (0, 0.5, 1 and 1.5 mg/l) on rooting of two rootstock (JASPI and CAB 6P). Based on the results, MS medium with 1 mg/l BA + 0.2 mg/l IBA for proliferation of both rootstocks and WPM medium containing 1.5 mg/l IBA + 0.5 mg/l NAA and WPM medium containing 0.5 mg/l IBA+ 0.5 mg/l NAA are recommended for rooting stage of CAB 6P and JASPI rootstocks, respectively.

Keywords: BA, cherry, dwarf rootstock, IBA, plant tissue culture, plum.

* Corresponding author E-mail: bouzari1111@yahoo.com

مقدمه

امروزه استفاده از پایه‌های بذری در احداث باغ‌های سنتی به دلایل متعددی ازجمله عدم یکنواختی باغ، کاهش یافته و پایه‌های رویشی متنوع تولید و معرفی شده برای انواع درختان میوه، جایگزین آنها گردیده است. این پایه‌ها امروزه در احداث باغ‌های مدرن مورد استفاده قرار می‌گیرند (Zarrouk et al., 2006). در دنیا هر ساله پایه‌های رویشی متعدد به‌خصوص از طریق تلاقی بین‌گونه‌ای مختلف در جنس پرونوس تهیه و معرفی می‌گردند که هر یک دارای خصوصیات منحصربه‌فردی هستند. پایه CAB 6P از گونه *Prunus cerasus* L. یکی از پایه‌های معروف نیمه پاکوتاه گیلاس می‌باشد (Dimassi *et al.*, 2006). این پایه دارای ارتفاع تقریبی ۴ متر، مقاوم به سرمای زمستانه، مقاوم به خاک‌های مرطوب و آهکی، سازگار با خاک‌های سنگین با نفوذپذیری کم و همچنین مقاومت بالا به فیتوفترا بوده و سبب زودرسی میوه، کیفیت بالای میوه، رنگ بهتر میوه و عملکرد بالای محصول گیلاس نسبت به پیوند بر روی پایه بذری می‌گردد. این پایه دارای عادت رشد متوسط و سیستم ریشه‌ی مستحکم در خاک است و تمایل به تولید پاجوش دارد (Sarropoulou *et al*, 2015). پایه JASPI نیز حاصل تلاقی بین *Prunus salicina*× *Prunus spinosa* بوده و از لحاظ پاکوتاه بودن بسیار قابل‌توجه می‌باشد و مقاومت خوبی در برابر بیماری‌ها، خاک‌های غرقاب شده و خاک آهکی دارد و دارای میانگین اندازه میوه بزرگ و وزن میوه بالا می‌باشد (Reighard *et al*, 2006).

در درختان میوه، انتخاب پایه مناسب با قابلیت تکثیر آسان از اهمیت بالایی برخوردار است (Daneshvar Hosseini *et al.*, 2011). کشت بافت گیاهی جهت ازدیاد پایه‌ها و رقم‌های گیاهی به‌طور گسترده مورد استفاده قرار می‌گیرد (Vujović *et al.*, 2012; Druart, 2013). همچنین با استفاده از این تکنیک امکان تکثیر گیاه در تمام طول سال وجود دارد که به موجب آن، سرعت تکثیر به‌طور معنی‌داری نسبت به تکثیر رویشی با قلمه افزایش می‌یابد (Dorić *et al.*, 2014). ازآنجایی‌که یک محیط کشت یکسان برای کشت درون‌شیشه‌ای تمام گیاهان وجود ندارد، انتخاب محیط مناسب، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و دیگر ترکیباتی که می‌توانند تولید گیاه را افزایش دهند، بسیار مهم است (Rustaei et al., 2009; Hossini *et al.*, 2010).

Izadpanah *et al.* (2004) در بررسی اثر ژنوتیپ بر نحوه تکثیر گیلاس وحشی (*Prunus avium*) در کشت درون‌شیشه‌ای دریافتند که بین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی تفاوت‌های مشخصی وجود داشت. مطالعه کشت بافت شاخه‌های تک جوانه چند دورگه بین‌گونه‌ای در جنس پرونوس نشان داد در مرحله استقرار، بیشترین درصد رشد ریزنمونه و استقرار موفق در محیط کشت WPM و MS تغییریافته حاوی هورمون‌های ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و در مرحله پرآوری، بیشترین میزان شاخه‌زایی در محیط کشت MS تغییریافته و ½ MS حاوی ترکیب هورمونی یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد (Dejampour *et al.*, 2007). در پایه‌های پاکوتاه گیلاس، بیشترین تعداد شاخساره‌ها در محیط کشت حاوی غلظت بالای BA دیده شد، ولی در این محیط اندازه برگ‌ها ریز شده و حالت لوله‌ای به خود گرفتند (Sedlak *et al.*, 2005). همچنین در کشت بافت پایه‌های رویشی گیلاس، بیشترین میزان تکثیر شاخه در محیط کشت WPM حاوی IBA و بیشترین میزان ریشه دهی در محیط کشت WPM حاوی IBA و NAA به‌دست آمد (Dziedzic and Malodobry, 2006). در ریزادیادی گیلاس رقم Lapins در محیط کشت پایه MS، بیشترین میزان تکثیر شاخه و طول شاخه در محیط کشت حاوی ۵ میکرومولار BA + ۰/۵ میکرومولار IBA به‌دست آمد و غلظت بالاتر BA باعث بیشتر شدن تعداد شاخه‌های کوتاه می‌شود که مناسب انتقال به مرحله ریشه‌زایی نیستند (Ruzic and Vujovic, 2008). در بررسی پرآوری و ریشه‌زایی پایه رویشی محلب گزارش شد که محیط کشت DKW حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بهترین محیط برای پرآوری این پایه بود و محیط کشت MS حاوی غلظت‌های یک میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA در

مراحل بعدی قرار گرفتند. همچنین محیط کشت DKW بدون هورمون با ریشه‌دهی ۱۰۰ درصد بهترین محیط کشت بود و محیط کشت MS با یک میلی‌گرم در لیتر IBA و همچنین QL تغییریافته در مراحل بعدی قرار گرفتند (Mahdavian *et al*., 2010).

بررسی ریزازدیادی انواع پایه درختان هسته‌دار شامل VPK1، سنت‌جولین A و GF677 در محیط کشت‌های MS تغییر یافته، WPM و Knop نشان داد محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۴/۰۳ بیشترین تعداد ریشه و محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA با میانگین ۱/۸۴ کمترین تعداد ریشه را تولید کردند. پرآوری مطلوب برای پایه‌های GF677 و VPK1 نیز در محیط کشت MS تغییر یافته حاوی ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد (Tatari Varnosfaderani *et al*., 2012). Ganji Moghadam *et al*., (2008) در تکثیر درون‌شیشه‌ای چهار ژنوتیپ پاکوتاه گزینش شده محلب دریافتند که بهترین شاخه‌زایی در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر اسیدجیبرلیک و یک میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین و بهترین غلظت هورمونی برای ریشه‌دار کردن شاخه‌ها کاربرد ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر IBA بود. میزان زنده‌مانی گیاهچه تعدادی از پایه‌های جنس پرونوس شامل Capdeboscq، ژنوتیپ VP417، GF-677 و VP411 پس از طی مرحله سازگاری، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌های مختلف IBA در مرحله ریشه‌زایی، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ هورمون قرار گرفت (Rogalski *et al*., 2003).

ازآنجایی‌که احداث باغات مکانیزه نیازمند تولید نهال‌های رویشی یکسان و استوار بوده و با توجه به اهمیت بالای استفاده از پایه‌های پاکوتاه در سراسر جهان و تکثیر انبوه آنها از طریق کشت بافت، این پژوهش با هدف بهینه‌سازی ریزازدیادی پایه‌های رویشی CAB 6P و JASPI و دستیابی به پروتکل مناسب جهت تکثیر انبوه آنها از طریق تعیین اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در راستای دست‌یابی به گیاهچه‌های باکیفیت مطلوب در شرایط درون‌شیشه‌ای انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی و محیط های کشت

این پژوهش با هدف بررسی ریزازدیادی پایه‌های رویشی CAB 6p و JASPI تحت شرایط درون‌شیشه‌ای در پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، مؤسسه تحقیقات باغبانی، البرز، ایران، طی سال‌های ۱۳۹۴-۱۳۹۶ و به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در این پژوهش از سه محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1962)، WPM (Lloyd & McCown, 1980) و MS ½ با غلظت‌های استاندارد استفاده شد (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱. ترکیبات و مقادیر عناصر پرمصرف در دو محیط کشت پایه MS و WPM

Table 1. Compounds and quantities of macronutrients in MS and WPM media

Compounds	Media	
	MS (mg.l-1)	WPM (mg.l-1)
NH_4NO_3	1650	400
KNO_3	1900	-
$CaCl_2$	332.02	72.50
$Ca(NO_3)\ 2.2H_2O$	-	471.26
$MgSO_4$	180.54	180.54
KH_2PO_4	170	170
K_2SO_4	-	990

جدول ۲. ترکیبات و مقادیر عناصر کم‌مصرف در دو محیط کشت پایه MS و WPM

Table 2. Compounds and quantities of micronutrients in MS and WPM media

Compounds	Media	
	MS (mg.l-1)	WPM (mg.l-1)
H_3BO_3	6.20	6.20
$MnSO_4.H_2O$	16.90	22.30
$ZnSO_4.4H_2O$	8.6	8.6
KI	0.83	0.25
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	0.25
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	-
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	-

مواد گیاهی از سرشاخه‌های سال جاری پایه‌های CAB 6p و JASPI موجود در گلخانه مؤسسه تحقیقات باغبانی تهیه گردید. در تمامی مراحل ریزازدیادی، ریزنمونه‌ها پس از کشت به اتاقک رشد با دمای ۲±۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۲±۴۰ درصد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. در این پژوهش از سه محیط کشت پایه MS (Murashige & Skoog, 1962)، WPM (Lloyd & McCown, 1980) و MS ½ با غلظت‌های استاندارد

استفاده شد. مواد لازم برای تهیه استوک آهن و ویتامین‌ها نیز به‌ترتیب در جدول‌های ۳ و ۴ گزارش شده است. برای تهیه محلول ذخیره هورمون BAP و IBA به نسبت ۱:۱، به‌ترتیب ۴۰ و ۲۰ میلی‌گرم از هورمون مورد نظر در محلول سود (NaOH) یک نرمال به‌طور کامل حل شد و به‌ترتیب به حجم ۴۰ و ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

جدول ۳. ترکیبات لازم جهت تهیه ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول ذخیره‌ای آهن x۱۰۰

Table 3. Compounds needed to prepare 200 milliliters of 100 x iron stock solution

Compounds	Value (mg/l)	100x (mg/l)	100x (g/200cc)
$FeSO_4.7H_2O$	27.2	2780	0.556
Na_2EDTA	37.2	3730	0.746

جدول ۴. ترکیبات لازم جهت تهیه ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول ذخیره ویتامین x۱۰۰۰

Table 4. Compounds needed to prepare 100 milliliters of 1000 x vitamins stock solution

Vitamins	Value (mg/l)	1000x (mg/l)	1000x (g/100cc)
Nicotinic Acid	0.5	500	0.05
Thiamine HCL	0.1	100	0.01
Pyridoxine HCL	0.5	500	0.05

ساکارز به میزان ۳۰ گرم، برای هر لیتر محیط به‌طور مستقیم به محیط کشت اضافه شد. هورمون‌ها نیز با توجه به نوع و غلظت‌های موردنیاز به محیط اضافه شدند. بعد از اضافه‌کردن ویتامین‌ها و آهن، حجم محلول فوق را با آب مقطر به یک لیتر رسانده و pH محیط کشت با استفاده از سود و کلریدریک اسید به ترتیب یک نرمال و ۰/۱ نرمال روی ۵/۸-۵/۷ تنظیم شد. به‌منظور جامد نمودن محیط کشت، هفت گرم آگار به یک لیتر محیط اضافه شد. پس از حل شدن کامل آگار و شفاف‌شدن، محلول محیط کشت در شیشه‌های مربایی پخش شد و درون اتوکلاو (دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۰۶ کیلوگرم بر سانتی‌متر مربع) به‌مدت ۲۰ دقیقه استریل گردید.

ضدعفونی و استقرار

برای انجام ضدعفونی سطحی، هر نمونه گیاهی همراه با یک جوانه (طول تقریباً دو سانتی‌متر) جدا و سپس داخل بشر همراه با چند قطره مایع ظرف‌شویی در زیر آب قرار داده تا به‌مدت ۲۰ دقیقه آبشویی شود. در مرحله بعدی، نمونه‌ها در زیر هود لامینار با وایتکس ۵۰ درصد (هیپوکلریت ۲/۵ درصد) به‌مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی شدند. جهت اطمینان از ضدعفونی کامل، نمونه‌ها سه مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. در مرحله بعد، نمونه‌ها در شرایط کاملاً استریل به درون محیط کشت مورد نظر انتقال یافتند. استقرار ریز نمونه‌ها نیز در محیط کشت پایه MS فاقد هورمون انجام گرفت. درون هر شیشه حاوی محیط کشت تعداد دو عدد ریزنمونه قرار داده شد و در کل تعداد ۱۲۰ عدد ریزنمونه از هر پایه موردنظر، در شیشه‌های مربایی کشت و به اتاق رشد منتقل شدند.

پرآوری

در این مرحله به‌منظور بررسی اثر محیط کشت پایه MS و هورمون‌های IBA و BAP بر پرآوری پایه‌های رویشی CAB 6P و JASPI، پس از رشد جوانه جانبی ریزنمونه‌های استقرار یافته در محیط کشت MS، هنگامی‌که طول شاخه حاصل به ۱/۵-۲ سانتی‌متر رسید، آنها از پایه مادری جدا و در محیط کشت پایه استاندارد MS و ½ MS حاوی هورمون‌های BAP (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (صفر، ۰/۱، ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت جداگانه و ترکیبی، کشت و سپس به اتاقک رشد منتقل شدند. پس از گذشت ۴ هفته، یادداشت برداری از صفات تعداد شاخساره، تعداد برگ، طول بلندترین شاخه و میانگین طول شاخه‌ها در هر ریزنمونه انجام گرفت.

ریشه‌زایی

در این مرحله، به‌منظور ارزیابی اثر محیط کشت پایه و هورمون‌های IBA و NAA بر ریشه‌زایی پایه‌های رویشی CAB 6P و JASPI، شاخه‌های تولیدی در مرحله پرآوری که دارای ساقه قوی و با اندازه ۳-۴ سانتی‌متر بودند، انتخاب و در محیط کشت پایه استاندارد MS و WPM، حاوی هورمون‌های IBA (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند. پس از

گذشت ۴ هفته یادداشت‌برداری از صفات درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، طول بلندترین ریشه و میانگین طول ریشه در هر ریزنمونه انجام گرفت.

سازگاری

برای انتقال گیاهچه‌های کشت بافتی رشدیافته در شرایط درون‌شیشه‌ای به محیط خارج، گیاهچه‌های رشد یافته و ریشه‌دار شده در محیط کشت درون‌شیشه‌ای به لیوان‌های یک‌بار مصرف حاوی کوپیت و پرلیت (استریل شده با اتوکلاو) به نسبت حجمی ۱:۱ منتقل و در دمای ۲±۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰-۶۰ درصد نگهداری شدند تا به‌تدریج (حدود ۴ هفته) با محیط بیرون سازگار گردند. آبیاری یک روز در میان انجام گرفت و کوددهی گیاهان با کود کامل فوسامکو (غلظت دو در هزار) هفته‌ای یک بار صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار و در هر تکرار تعداد دو ریزنمونه انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم شد.

نتایج و بحث

مرحله استقرار

در این مرحله پس از ضدعفونی و کشت ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد میزان ۸۵ درصد از ریزنمونه‌های CAB 6p و میزان ۵۶ درصد از ریزنمونه‌های JASPI بدون آلودگی و با موفقیت در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای مستقر گردیدند و میزان شاخه‌زایی جانبی ریزنمونه‌های پایه رویشی CAB 6p ۷۰ درصد و JASPI ۵۳ درصد بود.

اثر نوع محیط کشت و غلظت BA و IBA بر پرآوری پایه رویشی CAB 6p و JASPI

براساس نتایج تجزیه واریانس، اثرات متقابل نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف هورمون BA و IBA بر تمامی صفات موردمطالعه (تعداد شاخساره، تعداد برگ، طول بلندترین شاخه و میانگین طول شاخه‌ها) در پایه CAB 6p در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). همچنین نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۶) نشان داد که در پایه CAB 6p بیشترین تعداد شاخساره (۶/۷۵ عدد) و بیشترین تعداد برگ (۲۰/۲۵ عدد) در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد. کمترین تعداد برگ در محیط کشت MS ½ بدون کاربرد هورمون BA و حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید. همچنین حداکثر طول بلندترین شاخه (۴/۶۰ سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد. بیشترین میانگین طول شاخه‌ها (۳/۹۴ سانتی‌متر) نیز در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و پس از آن در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA+ ۰/۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA مشاهده شد (جدول ۶) (شکل b-۲).

جدول ۵. تجزیه واریانس اثر محیط کشت و BA و IBA بر پرآوری پایه CAB 6p از گونه *Prunus cerasus* L.

Table 5. Variance analysis of culture medium and BA and IBA on proliferation of *Prunus cerasus* rootstock (CAB 6p)

S.O.V	df	Mean Squares			
		Shoot number	Leaf number	The highest shoot length	The average of shoot length
Culture medium	1	39.40 **	31.17 **	10.90 **	4.54 **
BA	3	35.53 **	535.50 **	1.93 *	0.94 **
IBA	2	5.99 **	226.90 **	0.42 ns	0.57 **
BA × IBA	6	10.35 **	325.60 **	2.10 **	1.03 **
Culture medium × BA	3	20.20 **	59.70 **	2.02 **	1.02 **
Culture medium × IBA	2	16.45 **	159.27 **	0.27 ns	0.54 **
Culture medium × IBA × BA	6	8.63 **	118.6 **	1.95 **	1.19 **
Error	72	0.27	3.16	0.47	0.16

**، * و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

جدول ۶. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت، BA و IBA بر پرآوری پایه CAB 6p از گونه *Prunus cerasus* L.

Table 6. Mean comparison interaction of culture medium, BA and IBA on prolifration of *Prunus cerasus* rootstock (CAB 6p)

Treatments			Shoot number	Leaf number	The highest shoot length (cm)	The average of shoot length (cm)
Culture media	IBA	BA				
MS	0	0	1.50 e	10.12 g	1.75 d	1.61 c
		0.5	1.37 e	10.87 fg	1.93 d	1.87 c
		1	4.25 b	13.62 cd	3.40 b	2.32 b
		1.5	2.50 d	9.75 gh	2.12 cd	1.64 c
	0.1	0	1.50 e	10.35 fg	1.65 d	1.48 c
		0.5	1.37 e	12.37 e	4.60 a	3.94 a
		1	3.20 c	14.00 cd	2.10 cd	2.00 bc
		1.5	3.50 c	16.50 c	1.90 cd	1.75 c
	0.2	0	1.50 e	7.00 i	1.50 d	1.5 c
		0.5	2.55 d	15.75 c	1.70 d	1.47 c
		1	6.75 a	20.25 a	3.12 b	2.52 b
		1.5	4.62 b	11.37 g	2.37 c	2.01 bc
½ MS	0	0	1.25 e	8.37 h	1.90 cd	1.75 c
		0.5	1.50 e	12.50 e	1.66 d	1.54 c
		1	1.37 e	7.75 i	1.42 d	1.37 c
		1.5	1.75 e	12.42 e	1.98 cd	1.77 c
	0.1	0	1.12 e	8.37 i	1.46 d	1.41 c
		0.5	1.75 e	14.25 e	1.76 cd	1.55 c
		1	3.00 c	18.00 b	1.65 d	1.60 c
		1.5	3.50 c	18.50 b	1.80 cd	1.70 c
	0.2	0	1.00 e	5.00 j	1.50 d	1.50 c
		0.5	1.50 e	9.00 h	1.60 d	1.60 c
		1	1.75 e	13.37 e	1.77 cd	1.61 c
		1.5	1.25 e	9.25 h	1.50 d	1.30 c

میانگین‌های دارای حروف مشابه درون هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر ندارند.

Means followed by same letter(s) within a column are not significantly different from each other at 0.01 of probability levels.

براساس نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در پرآوری پایه رویشی JASPI، اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA و IBA بر تعداد برگ و طول بلندترین شاخه در سطح احتمال یک درصد و بر تعداد شاخه و میانگین طول بلندترین شاخه در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۷). بررسی نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها (جدول ۸) نشان داد در پرآوری پایه JASPI، بیشترین تعداد شاخساره (۴/۲۵ عدد) در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و پس از آن در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد. تعداد برگ در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA حداکثر (۲۳/۵ عدد) بود. حداکثر طول بلندترین شاخه (۲/۶۷ سانتی‌متر) و بیشترین میانگین طول شاخه‌ها (۲/۳۲ سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید (جدول ۸) (شکل a-۲).

در مرحله پرآوری، غلظت‌های مناسب عناصر کم‌مصرف و پرمصرف و همچنین نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تکثیر گیاهان چوبی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای نقش مهمی دارد (Andreu & Marín, 2005). اکسین‌ها و سایتوکینین‌هابه عنوان پیام‌رسان‌های شیمیایی و مولکول‌های کلیدی در رشد و نمو گیاهان می‌باشند (Moubayidin *et al.*, 2009). با توجه به گزارش Skoog & Miller (1957) در ارتباط با القای تشکیل شاخه در تنباکو در محیط کشت درون‌شیشه ای با کاربرد سطوح نسبتاً کم اکسین و سطوح بالای سایتوکینین، نتیجه گرفته شد بسیاری از مراحل تمایزیابی سلولی و اندام‌زایی در کشت بافت و اندام، با اثر متقابل اکسین و سایتوکینین کنترل می‌شوند (George *et al.*, 2008).

جدول ۷. تجزیه واریانس اثر محیط کشت، BA و IBA بر پرآوری پایه JASPI

Table 7. Variance analysis effect of culture medium, BA and IBA on proliferation of JASPI rootstock

S.O.V	df	Mean Squares			
		Shoot Number	Leaf number	The highest shoot length	The average of shoot length
Culture medium	1	2.80 *	21.10 ns	0.87 *	0.33 ns
BA	3	6.90 **	193.56 **	0.70 **	0.35 *
IBA	2	0.56 ns	82.88 **	3.16 **	1.35 **
BA × IBA	6	1.63 **	43.34 *	0.54 **	0.08 ns
Culture medium × BA	3	1.37*	29.03 ns	0.15 ns	0.02 ns
Culture medium × IBA	2	2.90 **	92.37 **	1.60 **	0.28 *
Culture medium × IBA × BA	6	1.170 *	62.29 **	0.57 **	0.20 *
Error	72	0.48	15.65	0.16	0.10

**، * و ns: به ترتیب وجود تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

جدول ۸. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشتBA و IBA بر پرآوری پایه JASPI

Table 8. Mean comparison interaction of culture medium, BA and IBA on prolifration of JASPI rootstock

Treatments			Shoot number	Leaf number	The highest shoot length (cm)	The average of shoot length (cm)
Culture media	BA	IBA				
MS	0	0	1.00 d	7.25 e	1.72 c	1.72 b
	0.5		1.50 d	10.75 d	1.47 c	1.45 bc
	1		1.75 d	11.00 d	1.27 c	1.22 c
	1.5		2.60 c	17.75 b	1.32 c	1.22 c
	0	0.1	1.00 d	7.50 e	1.20 c	1.20 c
	0.5		1.50 d	13.25 c	1.50 c	1.45 bc
	1		2.00 cd	10.25 d	1.32 c	1.30 bc
	1.5		2.25 c	13.00 c	1.20 c	1.10 c
	0	0.2	1.50 d	10.12 d	1.75 c	1.61 b
	0.5		2.37 c	10.87 d	1.94 b	1.87 b
	1		4.25 a	13.62 c	2.67 a	2.32 a
	1.5		3.20 b	23.50 a	2.12 b	1.64 b
½ MS	0	0	1.00 d	7.00 e	1.20 c	1.15 c
	0.5		2.00 cd	17.25 b	1.97 b	1.60 bc
	1		1.75 cd	15.25 b	1.62 c	1.55 bc
	1.5		1.50 d	7.50 e	1.22 c	1.20 c
	0	0.1	1.00 d	8.00 e	1.27 c	1.27 c
	0.5		1.50 d	16.75 b	1.35 c	1.30 c
	1		1.75 d	14.75 b	1.47 c	1.27 c
	1.5		2.85 c	13.25 bc	1.47 c	1.25 c
	0	0.2	1.00 d	5.00 e	1.50 c	1.50 bc
	0.5		1.50 d	9.00 d	1.60 c	1.60 bc
	1		1.75 d	13.37 bc	1.77 c	1.61 bc
	1.5		1.25 d	9.25 d	1.50 c	1.30 c

میانگین‌های دارای حروف مشابه درون هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر ندارند.

Means followed by same letter(s) within a column are not significantly different from each other at 0.01 of probability levels.

براساس نتایج حاصل از پژوهش حاضر، بیشترین تعداد شاخه رشد یافته در پایه‌های CAB 6P و JASPI در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم BA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم IBA به‌دست آمد که این نتایج با گزارش‌های سایر محققین در این زمینه مطابقت دارد. Hosseini *et al.* (2010) گزارش کرد در تکثیر درون‌شیشه‌ای Gesilla 6 بیشترین تعداد شاخساره در کاربرد یک میلی‌گرم BA در محیط کشت MS به‌دست آمد. در اکثر گزارش‌ها، هورمون BA برای پرآوری گیاهچه پایه‌های جنس پرونوس مناسب تشخیص داده شده است (Izadpanah, 2003). در بررسی تکثیر درون‌شیشه‌ای Gesilla5 محیط کشت MS به‌عنوان مناسب‌ترین محیط کشت گزارش شده است که علت این امر جذب بیشتر فسفر و نیتروژن توسط شاخساره‌ها و در نتیجه افزایش پرآوری و کیفیت بهتر آنها می‌باشد (Ruzic *et al.*, 2000).

اثر متقابل اکسین و سایتوکینین به‌دلیل کنترل فرآیندهای نموی از جمله تشکیل و رشد مریستم‌ها برای ابقای کل گیاه، بسیار مهم است (Su *et al.*, 2011). اثر متقابل اکسین و سایتوکینین در اثری سینرژیک، سبب رشد مریستم شاخه و در اثری آنتاگونیستی سبب جلوگیری از رشد مریستم ریشه می‌گردد (Yang *et al.*, 2017). در پژوهش حاضر، در هر دو پایه CAB 6P و JASPI در کاربرد یک میلی‌گرم در لیتر BA+ ۰/۲ میلی‌گرم در IBA، افزایش حداکثری تعداد شاخساره تولیدشده و پرآوری مطلوبی مشاهده شد. در مقابل، هم‌زمان با افزایش میزان پرآوری، از طول شاخساره پایه CAB 6P کاسته شد. این نتایج با گزارش Karamad *et al.* (2013) در پرآوری Gisella 6 مطابقت دارد. ایشان گزارش کردند که با افزایش غلظت BAP تعداد شاخساره تولیدشده از هر ریزنمونه در محیط کشت WPM افزایش یافت، به‌طوری‌که بالاترین میانگین تعداد شاخساره در غلظت ۲ میلی‌گرم BA به‌دست آمد، اما طول شاخساره‌ها به‌شدت کاهش یافت که علت آن می‌تواند رقابت بین شاخساره‌ها و اثر نامطلوب غلظت بالای BA و به‌هم‌خوردن تعادل هورمونی داخل ریزنمونه‌ها باشد (Andreu & Marin, 2005). همچنین اگر غلظت BA از حد موردنیاز بیشتر باشد، گیاه به‌دلیل جذب سایتوکینین، از حالت طبیعی خارج شده و برگ‌ها زرد و لوله‌ای می‌شوند (Kamali *et al.*, 2001).

نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش نشان داد پایه JASPI بیشترین تعداد شاخه و طول بلندترین شاخه در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد و افزایش بیش ازحد غلظت BA سبب کاهش پرآوری گردید. براساس گزارش‌های دیگر در افزایش درون‌شیشه‌ای پایه‌های پاکوتاه گیلاس، پرآوری بهینه در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد (Debergh *et al.*, 1992).

نقش BAP در محیط کشت، شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخه‌های جدید است. اثر آشکار دیگر حضور BAP در محیط کشت، اثر بازدارندگی در تشکیل ریشه می‌باشد (Ganji Moghadam *et al.*, 2008). در پژوهش حاضر مشخص گردید که غلظت‌های مختلف BA به میزان قابل‌توجهی درصد شاخه‌زایی را در دو پایه CAB 6P و JASPI تحت تأثیر قرار داد. Kamali *et al.*, (2006) گزارش کردند که در کشت درون‌شیشه‌ای GF677، استفاده بیش از یک میلی‌گرم در لیتر BA باعث افزایش میزان پرآوری شد، ولی شیشه‌ای‌شدن را به دنبال داشت (Kamali *et al.*, 2006). درحالی‌که مغایر با نتایج Kamali *et al.* (2006) نتایج پژوهش حاضر مشخص کرد که در غلظت‌های ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بیشترین میزان پرآوری شاخه بدون شیشه‌ای شدن به‌دست آمد. Izadpanah (2004) در بررسی ژنوتیپ‌های گیلاس وحشی از طریق کشت درون‌شیشه‌ای گزارش کردند که بهترین غلظت هورمون BA برای شاخه‌زایی ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر می‌باشد که برای طویل شدن شاخه‌ها استفاده از غلظت‌های پایین BA یا محیط کشت بدون هورمون مناسب می‌باشد. Ganji Moghadam *et al.* (2008) بیان کردند در تکثیر درون‌شیشه‌ای ژنوتیپ محلب، بهترین شاخه‌زایی در محیط کشت حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA به همراه یک میلی‌گرم اسید جیبرلیک به‌دست خواهد آمد. Dziedzic & Malodobry (2006) و Ružić & Vujović (2008) در تکثیر درون‌شیشه‌ای گیلاس به‌ترتیب IBA و BA را بهترین هورمون برای تکثیر اندام هوایی معرفی کردند. Fallahpour *et al.* (2015) در ریزازدیادی پایه گیلاس CAB 6P محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA را مناسب‌ترین محیط کشت برای پرآوری معرفی کردند. همچنین نتایج Ganji Moghadam *et al.* (2008) در بررسی تکثیر چهار ژنوتیپ پاکوتاه محلب نشان داد که میزان پرآوری شاخه‌ها و کیفیت آنها علاوه بر ترکیبات محیط کشت تحت تأثیر نوع ژنوتیپ نیز می‌باشد که این می‌تواند دلیلی بر وجود تفاوت در واکنش‌های دو پایه CAB 6P و JASPI نسبت به نوع محیط کشت و غلظت BA در پژوهش حاضر باشد. بیان شده است که کاهش غلظت BAP باعث افزایش طول و کیفیت ریزشاخه‌ها در شرایط کشت بافت می‌شود (Sedlak, 2005). بر این اساس Izadpanah (2004) گزارش کرد که با کاهش غلظت BAP طول شاخه‌های گیلاس وحشی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای افزایش می‌یابد. مشابه با گزارش های

پژوهش حاضر، بیشترین طول شاخه در غلظت‌های کمتر BAP برای CAB 6P به‌دست آمد.

اثر نوع محیط کشت و غلظت IBA و NAA بر ریشه‌زایی پایه‌های رویشی CAB 6p و JASPI

براساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۹) در پایه CAB 6p، اثر نوع محیط کشت بر درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه‌ها و طول بلندترین ریشه در سطح احتمال یک درصد و بر میانگین طول ریشه‌ها در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. همچنین سطح احتمال معنی‌داری یک درصد برای اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف IBA و NAA بر تعداد ریشه، طول بلندترین ریشه و میانگین طول ریشه‌ها به‌دست آمد. براساس نتایج مقایسه میانگین‌ها، میزان ۱۰۰ درصد ریشه‌زایی در محیط کشت MS به‌دست آمد (شکل ۱).

نتایج مقایسه میانگین‌ها (جدول ۱۰) نشان داد در پایه رویشی CAB 6p، بیشترین تعداد ریشه (۱۴/۲۵) در محیط کشت WPM حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. بلندترین طول ریشه (۴/۲۰ سانتی‌متر) در محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد. همچنین میانگین طول بلندترین ریشه در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه یک میلی‌گرم در لیتر NAA حداکثر (۳/۸ سانتی‌متر) بود. تعداد ریشه، بلندترین طول ریشه و میانگین طول ریشه در محیط کشت MS فاقد IBA و NAA حداقل (صفر) بود (جدول ۱۰) (شکل ۲-d).

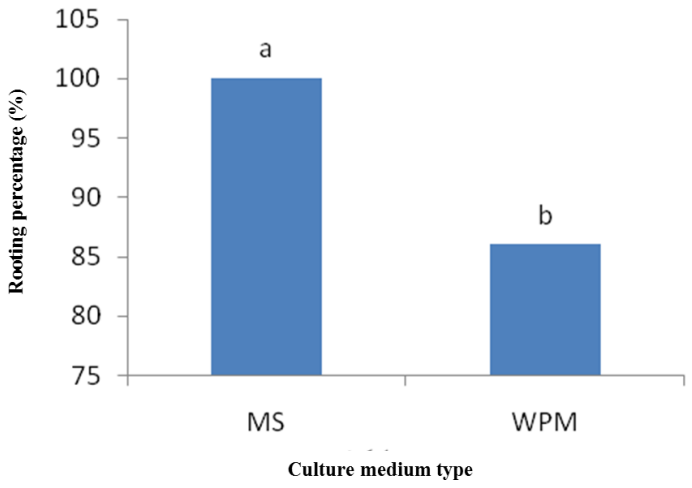
جدول ۹. تجزیه واریانس اثر محیط کشت، NAA و IBA بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه CAB 6p از گونه *Prunus cerasus* L.

Table 9. Variance analysis effect of culture medium, BA and IBA on explant rooting of *Prunus cerasus* rootstock (CAB 6p)

S.O.V	df	Mean Squares			
		Rooting percentage	Root number	The highest root length	The average root length
Culture medium	1	3713.68 *	160.57 **	1.75 **	3.74 *
IBA	3	8649.63 ns	221.56 **	8.15 **	3.13 *
NAA	2	555.60 ns	6.93 ns	0.64 ns	0.24 ns
IBA × NAA	2	532.12 ns	192.43 **	2.25 **	1.22 *
Culture medium × IBA	2	138.88 ns	170.79 **	2.36 **	0.72 *
Culture medium × NAA	2	556.60 ns	107.79 **	2.90 **	1.74 *
Culture medium × IBA × NAA	8	130.90 ns	64.40**	1.25 **	1.02 *
Error	57	87.71	9.26	0.38	0.38

**، * و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر محیط کشت بر درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه CAB 6p از گونه *Prunus cerasus* L.

Figure 1. Mean comparison effect of culture medium on explant rooting percentage of *Prunus cerasus* rootstock (CAB 6p)

جدول ۱۰. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت،IBA و NAA بر ریشه زایی ریزنمونه‌های پایه CAB 6p از گونه *Prunus cerasus* L.

Table 10. Mean comparison interaction of culture medium, IBA and NAA on explant rooting of *Prunus cerasus* rootstock (CAB 6p)

Treatments			Root number	The highest root length (cm)	The average root length (cm)
Culture media	IBA	NAA			
MS	0	0	0.00 e	0.00 e	0.00 d
	0.5	0.5	1.25 d	2.25 d	2.25 bc
		1	2.00 d	1.50 d	1.32 c
		1.5	1.75 d	1.70 d	1.37 c
	1	0.5	10.6 b	2.62 cd	1.97 bc
		1	7.00 c	3.26 b	3.80 a
		1.5	4.75 c	2.90 c	1.95 bc
	1.5	0.5	6.75 c	4.20 a	2.27 bc
		1	6.50 c	2.90 c	2.00 bc
		1.5	4.75 c	2.70 c	2.15 bc
WPM	0	0	2.25 d	1.82 d	1.87 bc
	0.5	0.5	3 d	2.60 c	2.35 bc
		1	7.50 c	3.30 b	2.77 b
		1.5	6.5 c	2.87 c	2.55 b
	1	0.5	3.75 cd	2.32 cd	1.62 c
		1	6.75 c	3.67 b	3.00 b
		1.5	6.25 c	1.82 d	1.50 c
	1.5	0.5	14.25 a	3.40 b	2.65 bc
		1	12.30 b	2.57 c	2.32 bc
		1.5	8.68 c	1.60 d	1.55 c

میانگین‌های دارای حروف مشابه درون هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر ندارند.

Means followed by same letter(s) within a column are not significantly different from each other at 0.01 of probability levels.

در ارتباط با پایه رویشی JASPI، نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر متقابل نوع محیط کشت و غلظت‌های مختلف IBA و NAA بر درصد ریشه‌زایی و همچنین بر تعداد ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، درحالی‌که بر طول بلندترین ریشه و میانگین طول ریشه اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱۱).

براساس نتایج به‌دست‌آمده، بیشترین درصد ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه JASPI در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم و یا ۱/۵ میلی گرم در لیتر NAA ، محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم و یا یک میلی‌گرم در لیتر NAA، محیط کشت MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه یک میلی‌گرم در لیتر NAA و همچنین محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد که تیمارهای ذکر شده از نظر درصد ریشه‌زایی تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. همچنین بیشترین تعداد ریشه در ریزنمونه‌ها (۹/۷۵ عدد) در محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد (جدول ۱۲، شکل c-۲).

براساس نتایج حاصل از آزمایش‌ها مرحله ریشه‌دهی، تیمار هورمونی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA+ ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA با تولید بیشترین تعداد ریشه (۱۴/۲۵) به عنوان بهترین تیمار برای ریشه‌زایی CAB 6P شناخته شد که با نتایج Izadpanah *et al.* (2004) مبنی بر کاربرد همزمان هورمون‌های IBA با NAA برای موفقیت بیشتر در مرحله ریشه‌زایی مطابقت دارد. القای ریشه‌زایی توسط هورمون‌های IBA و NAA برای بسیاری از گونه‌های جنس *Prunus* انجام شده است (Pruski, 2000, 2007). Edriss *et al.* (2014) در مرحله ریشه‌زایی دو پایه رویشی هلو، بیشترین تعداد ریشه و طول ریشه را در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA+ یک میلی‌گرم در لیتر NAA گزارش کردند. در کشت درون‌شیشه‌ای ارقام مختلف زردآلوی مجارستانی ریشه‌زایی موفق ۹۰ درصدی با کاربرد غلظت‌های مختلف IBA و NAA گزارش شد

(Vertesy, 1981). Fallahpour *et al.* (2015) در ریزازدیادی پایه گیلاس، مطلوب‌ترین محیط ریشه‌زایی را در محیط کشت MS به‌همراه دو میلی‌گرم در لیتر IBA ارائه دادند. Ganji Moghadam *et al.* (2008) گزارش کردند که غلظت ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر IBA سبب دستیابی به ریشه‌دهی رضایت‌بخش ژنوتیپ‌های محلب گردید و در حضور IBA گرچه شاخه‌ها تعداد ریشه کمتری تولید کردند، اما این ریشه‌ها نسبت به ریشه‌های به‌وجودآمده در حضور NAA وضعیت طبیعی‌تری داشتند و ریشه‌هایی که در حضور NAA به‌خصوص در غلظت‌های بالا به وجود می‌آیند متورم و شکننده می‌شوند. گزارش شده است که با افزایش غلظت اکسین در محیط کشت، توانایی ریزنمونه‌ها برای تولید ریشه افزایش می‌یابد (Yang *et al.*, 2017). George (1984) تأیید کرد افزایش غلظت اکسین تا حدود معینی باعث افزایش درصد ریشه‌زایی می‌شود و بیش از آن، نه‌تنها تأثیری در تولید و تعداد ریشه نخواهد شد، بلکه واکنش‌های منفی در پی خواهد داشت. همچنین George (2008) گزارش کرد که افزایش غلظت اکسین تا اندازه معینی باعث افزایش درصد ریشه‌زایی می‌شود و او این مقدار را برای مرحله ریشه‌زایی تا ۵ میکرومولار اعلام کرد و بیشتر از آن تا غلظت ۱۰ میکرومولار، نه‌تنها تأثیری در تولید یا حتی تعداد ریشه نداشت، بلکه نتیجه منفی را نیز به همراه داشت.

جدول ۱۱. تجزیه واریانس اثر محیط کشت، IBA و NAA بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه رویشی JASPI

Table 11. Variance analysis effect of culture medium, IBA and NAA on explant rooting of JASPI rootstock

S.O.V	df	Mean Squares			
		Rooting percentage	Root number	The highest root length	The average root length
Culture medium	1	1958.42 *	0.52 **	0.67 ns	0.10 ns
IBA	3	8185.74 **	3.16 **	5.31 ns	3.33 ns
NAA	2	243.05 ns	0.93 *	0.29 ns	0.23 ns
IBA × NAA	2	192.50 ns	1.20 *	0.24 ns	0.12 ns
Culture medium × IBA	2	1701.40 *	1.85 *	2.63 ns	1.45 ns
Culture medium × NAA	2	243.05 *	2.30 **	0.10 ns	0.03 ns
Culture medium × IBA × NAA	8	1284.72 **	0.74 **	0.60 ns	0.48 ns
Error	57	361.84	0.63	0.34	0.25

**، * و ns: به ترتیب تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد و نبود تفاوت معنی‌دار.

**, *, ns: Significantly differences at 1 and 5% of probability levels, and non-significantly differences, respectively.

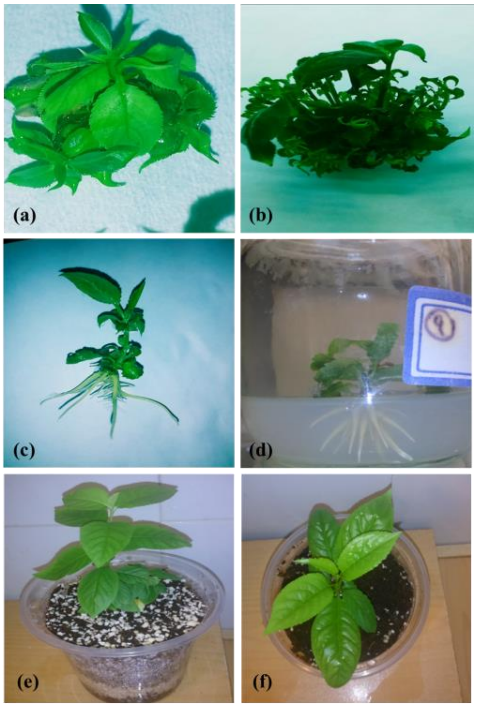
جدول ۱۲. مقایسه میانگین اثر محیط کشت، IBA و NAA بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه JASPI

Table 12. Mean comparison effect of culture medium, IBA and NAA on explant rooting of JASPI rootstock

Treatments			Rooting percentage (%)	Root number
Culture media	IBA	NAA		
MS	0	0	0 d	0.00 f
	0.5	0.5	100 a	4. 11 d
		1	75 b	4.15 d
		1.5	100 a	4.17 d
	1	0.5	100 a	8.10 b
		1	100 a	7.79 c
		1.5	87.5 b	4.12 d
	1.5	0.5	50 c	5.80 cd
		1	100 a	7.82 c
		1.5	87.5 b	4.19 d
WPM	0	0	0 d	0 f
	0.5	0.5	100 a	9.75 a
		1	75 b	7.98 b
		1.5	75 b	7.65 c
	1	0.5	50 c	3.88 de
		1	75 b	7.54 c
		1.5	50 c	7.56 c
	1.5	0.5	62.5 bc	7.66 c
		1	75 b	8.15 b
		1.5	75 b	7.79 b

میانگین‌های دارای حروف مشابه درون هر ستون تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد با یکدیگر ندارند.

Means followed by same letter(s) within a column are not significantly different from each other at 0.01 of probability levels.



شکل ۲. اثر هورمون BA در محیط کشت MS بر پرآوری ریزنمونه‌های پایه JASPI (a) و CAB 6P (b)، اثر هورمون‌های IBA + NAA در محیط کشت WPM بر ریشه‌زایی ریزنمونه‌های پایه JASPI (c) و CAB 6P (d)، سازگاری و تولید نهال کشت بافتی پایه JASPI (e) و CAB 6P (f).

Figure 2. Effect of MS medium containing BA hormone in proliferation of JASPI (a) and CAB 6P (b) rootstocks, Effect of NAA + IBA hormone on explant rooting of JASPI (c) and CAB 6P (d) rootstocks, acclimatization of micropropagated JASPI (e) and CAB 6P (f) rootstocks.

نتیجه‌گیری کلی

در پژوهش حاضر در مرحله استقرار ریز نمونه از محیط کشت MS استفاده شد. در این مرحله درصد استقرار ریزنمونه‌های پایه CAB 6P بیشتر از پایه JASPI بود. آلودگی باکتریایی در پایه JASPI مانعی در جهت استقرار موفق ریزنمونه‌ها در این پایه بود که علت این امر را می‌توان به شرایط رشد گیاهان مادری پایه نسبت داد. در مرحله پرآوری ریزنمونه‌های پایه رویشی CAB 6P، بیشترین تعداد شاخه و بیشترین تعداد برگ در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA، و بیشترین طول شاخه در محیط کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. همچنین در مرحله پرآوری ریزنمونه‌های پایه JASPI، بیشترین تعداد شاخه و بیشترین طول شاخه در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA، بیشترین تعداد برگ در محیط کشت MS ½ حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید. در مرحله ریشه‌زایی، ریزنمونه-های پایه CAB 6p، بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت MS (ریشه‌زایی ۱۰۰درصد)، بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت WPM حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA+ ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و بیشترین میانگین طول ریشه در محیط کشت MS حاوی یک میلی‌گرم در لیتر IBA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردید. در پایه JASPI نیز بالاترین درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در محیط کشت WPM حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و سپس انتقال به محیط کشت بدون هورمون به‌دست آمد.

REFERENCES

1. Andreu, P. & Marín, J. A. (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 Horticulturae*, 106(2), 258-267.
2. Daneshvar Hosseini, A., Ganji Moghadam, E., Kavari Khorasani, S. & Bihamta, M. (2011). Effects of growth regulators on micro propagation of some Mahaleb dwarf genotypes (*Prunus mahaleb* L.). *Archives of Applied Science Research*, 3 (1), 118-125.
3. Debergh, P., Aitken-Christie, J., Cohen, D., Grout, B., Von Arnold, S., Zimmerman, R. & Ziv, M. (1992). Reconsideration of the term 'vitrification'as used in micropropagation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 30(2), 135-140.
4. Dejampour, J., Garigurian, V., Majidi, A. & Aliasgharzadeh, N. (2007). Sterilization, establishment and proliferation of some *Prunus* interspesific hybrids for *In vitro* culture. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 8 (3), 165-174. (in Farsi)
5. Dejampour, J., Garigurian, V., Majidi, A. & Onsorudi, F. (2010). Evaluation of *in vitro* rooting of some interspecific hybrids in *Prunus* genus. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technology*, 11 (1), 1-10. (in Farsi)

6. Dorić, D., Ognjanov, V., Ljubojević, M., Barać, G., Dulić, J., Pranjić, A., & Dugalić, K. (2014). Rapid propagation of sweet and sour cherry rootstocks. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42 (2), 488-494.
7. Druart, P. (2013). Micropropagation of *Prunus* species relevant to cherry fruit production. In: M. Lambardi, E.A. Ozudogru & S.M. Jain (Eds). *Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants*. (pp. 119-136). Humana Press, New York.
8. Dziedzic, E. & Malodobry, M. (2006). Vegetative cherry rootstocks in tissue culture. Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. *Sodininkysté ir Daržininkysté*, 25, 77-84.
9. Edriss, M. H., Baghdadi, G. A., Abd, E. R. & Abdel-Aziz, H. F. (2014). Micropropagation of some peach rootstocks. *Nature and Science*, 12 (3), 106-114.
10. Fallahpour, M., Miri, S. M. & Bouzari, N. (2015). Effect of culture medium and growth regulators on micpropogation of CAB-6P rootstock. In*: 3rd National Symposium on Sustainable Agriculture and Natural Resources*, 17 June, Mehrarvand Institute of Technology, Tehran, Iran. (in Farsi)
11. Gangi Moghadam, E., Bolandi, A.R. & Anahid, S. (2008). Micropropagation of four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. *Pajouhesh and Sazandegi*, 79, 54-61 (in Farsi).
12. George, E. F. & Sherrington, P. D. (1984). *Plant propagation by tissue culture: handbook and directory of commercial laboratories*, Exegetics Ltd. Press, Edington.
13. George, E. F., Hall, M. A. & De Klerk, G. J. (2008). Plant growth regulators II: cytokinins, their analogues and antagonists. In: *Plant propagation by tissue culture*. (pp. 205-226.) Springer Netherlands.
14. Hosseini, A. D., Moghadam, E. G. & Anahid, S. (2010). Effects of media cultures and plant growth regulators in micropropagation of Gisela 6 rootstock. *Annals of Biological Research*, 1(2), 135-141.
15. Izadpanah, M. (2003). The proliferation of *Ulmus glabra* through *in vitro* culture. *Pajouhesh and Sazandegi*, 16 (1), 66-74. (in Farsi)
16. Izadpanah, M. (2004). The effects of age and growth phase on micropropagation of *Prunus avium* through *in vitro* culture. *Pajouhesh and Sazandegi*, 64, 63-70. (in Farsi)
17. Kamali, K., Mahidi, E. & Zarghami, R. (2001). Determination of the most suitable culture medium and growth conditions for micropropagation of Gf677 (Hybrid of Almond X Peach) rootstocks. *Seed and Plant Improvement Journal*, 17 (3), 234-243 (in Farsi)
18. Kamali, K., Majidi, E., Zarghami, R. & Arvin, M. J. (2006) Differences in micropropagation of vegetative rootstock (GF677) and other almond seed genotypes. *Acta Horticulturae*, 726, 199-200.
19. Karamad, Z., Ganji Moghadam, E. & Bolandi, A. (2013). Effects of culture media and growth regulators on micropropagation of Gisela 6 rootstock. *Agricultural Crop Management* 16 (2): 339-351. (in Farsi)
20. Lloyd, G. & McCown, B.H. (1980) Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. Combined *Proceedings International Plant Propagator's Society*, 30, 421-427.
21. Mahdavian, M., Bouzari, N. & Abdollahi, H. (2010). Effects of culture media and growth regulators on proliferation and rooting of a vegetative mahlab rootstock (SL-64). *Seed and Plant Improvement Journal*, 26-1 (1), 15-26. (in Farsi)
22. Moubayidin, L., Di Mambro, R. & Sabatini, S. (2009). Cytokinin-auxin crosstalk. *Trends in Plant Science*, 14, 557-562.
23. Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiology of Plants*, 15, 473-97.
24. Pruski, K. (2007). Tissue culture propagation of Mongolian cherry (*Prunus fruticosa* L.) and Nanking cherry (*Prunus tomentosa* L.). In: S. M. Jain, & H. Häggman, (Eds), *Protocols for micropropagation of woody trees and fruits*. (pp. 391-407.) Springer Netherlands.
25. Pruski, K. W., Lewis, T., Astatkie, T. & Nowak, J. (2000). Micropropagation of Chokecherry and Pincherry cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63(2), 93-100.
26. Reighard, G. L., Ouellette, D. R. & Brock, K. H. (2006). Growth and survival of 20 peach rootstocks and selections in South Carolina. *Acta Horticulturae*, 713, 269-273.
27. Rogalski, M., Moraes, L. K. A. D., Felisbino, C., Crestani, L., Guerra, M. P. & Silva, A. L. D. (2003). Acclimatization of micropropagated *Prunus* sp. rootstocks. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 25(2), 279-281.
28. Rustaei, M., Nazeri, S., Ghadimzadeh, M., & Hemmaty, S. (2009). Effect of phloroglucinol, medium type and some component on *in vitro* proliferation of dwarf rootstock of apple (*Malus domestica*). *International Journal of Agriculture and Biology*, 11, 193-196.
29. Ružić, D., Sarić, M., Cerović, R. & Ćulafić, L. (2000). Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock 'Gisela 5' *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63 (1), 9-14.

30. Ružić, D. V. & Vujović, T. I. (2008). The effects of cytokinin types and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry cv. Lapins (*Prunus avium* L). *Horticultural Science*, 35(1), 12-21.
31. Sarropoulou, V., Dimassi-Theriou, K. & Therios, I. (2015). Medium strength in inorganics and PVP concentration effects on cherry rootstocks *in vitro* rooting. *Horticultural Science*, 42(4), 185-192.
32. Sedlak, J., Papertine, F. & Erbenova, M. (2005). *In vitro* propagation dwarfing sweet cherry rootstock. *Acta Horticulturae*, 667, 217-222
33. Su, Y.H., Liu, Y.B. & Zhang, X.S.H. (2011). Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development. *Molecular Plant*, 4 (4), 616-625.
34. Tatari Varnosfaderani, M., Mousavi, A. & Bouzari, N. (2012). Micropropagation of some clonal rootstocks of stone fruits. *Seed and Plant Improvement Journal*, 28-1 (1), 53-66. (in Farsi)
35. Vertesy, J. 1981. *In vitro* propagation of *Prunus persica* and *Prunus persico davidiana* shoot tip in order to get virus free plants. *Acta Horticulturae*, 94, 261-266.
36. Yang, Z.B., Liu, G., Liu, J., Zhang, B., Meng, W., Müller, B., Hayashi, K., Zhang, X., Zhao, Z.H., Smet, I.V. & Ding, Z.H. (2017). Synergistic action of auxin and cytokinin mediates aluminum-induced root growth inhibition in Arabidopsis. *EMBO Reports*, 18, 1213-1230.
37. Zarrouk, O., Aparicio, J., Gogorcena, Y. & Moreno, M.A. (2006). Graft compatibility for new peach rootstocks in nursery. *Acta Horticulturae*, 713, 327-329.