بهینه‌سازی محیط کشت پُرآوری سه واریته زردآلو ایرانی به‌وسیله کشت تک‌گره

زهرا خزاعی‌کجوری[۱]، مهدی رضایی[۲*]، شاهرخ قرنجیک[۳] و حسن قربانی‌قوزدی[۴]

(تاریخ دریافت:۱۳۹۴/۴/۱۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۶/۱۵)

چکیده

در این پژوهش، تکثیر درون‌شیشه‌ای سه واریته زردآلو محلی شاهرود به نام‌های قوامی، رجبعلی و خیوه‌ای از طریق باززایی مستقیم مورد بررسی قرار گرفت. در ابتدا برای تعیین مناسب‌ترین تیمار ضدعفونی، قطعات گره از شاخه‌های یک‌ساله در فصل زمستان و رشد فصل جاری در بهار در تیمارهای مختلف کلرید جیوه و اسید سیتریک و الکل و هیپوکلرید سدیم (۱۰، ۱۵ و ۲۰ دقیقه) در محیط WPM کشت شدند. سپس گره‌ها در محیط کشت WPM و MS برای استقرار کشت شدند و پُرآوری گره‌های جوانه‌زده در محیط WPM با سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و IBA با غلظت ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بررسی گردید. برای القای ریشه از محیط نصف غلظت MS با تیمار IBA در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. بیشترین تعداد شاخه‌های عاری از آلودگی در تیمار کلرید جیوه ۰/۰۱ درصد و اسید سیتریک ۰/۰۷ درصد در شاخه‌های رشد فصل جاری به‌دست آمد. نتایج حاصل از مرحله استقرار نشان داد استفاده از دو محیط تفاوت معنی‌داری در رشد رویشی جوانه‌ها ندارند. نتایج نشان داد واریته‌های زردآلو، غلظت‌های مختلف BAP و اثرات متقابل، تأثیر معنی‌داری در تعداد و طول شاخه‌های پُرآوری شده دارند. بیشترین تعداد شاخه پُرآوری شده در واریته‌های رجبعلی و قوامی در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BAP و در واریته خیوه‌ای در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. بیشترین طول شاخه در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر BAP در واریته‌های رجبعلی و خیوه‌ای مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: زردآلو، کشت درون‌شیشه‌ای، بنزیل آمینوپورین BAP، پرآوری

۱، ۳ و ۴. به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و مربی، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

۲. استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی شاهرود

*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mhrezaei@shahroodut.ac.ir

مقدمه

زردآلو با اسم علمی *Prunus armeniaca* L. به‌عنوان دومین گونهٔ مهم در میوه‌های هسته‌دار بعد از هلو است و از نظر جغرافیایی نیاز اکولوژیکی خاصی دارد. بیش از نصف تولید جهانی در نواحی مدیترانه متمرکز شده است و ایران پس از ترکیه دومین تولید کننده اصلی زردآلو است (۸). بیشتر زردآلوهایی که از بذر به‌دست می‌آیند هتروزیگوت هستند، از این‌رو به‌صورت تجاری بیشتر از طریق پیوند جوانه بر روی دانهال‌های زردآلو یا سایر پرونوس‌ها تکثیر می‌شوند. انجام عملیات پیوند زمان‌بر و هزینه‌بر است و امکان انتقال بیماری نیز وجود دارد، به‌علاوه پایه‌های بذری زردآلو به‌دلیل هتروزیگوتی بالا، میزان عملکرد و مقاومت به آفات و بیماری‌ها یکسانی ندارند که مشکلات متعددی را برای پرورش‌دهندگان ایجاد می‌کند. مشخص شده است که درختان میوه هسته‌دار پرورش یافته بر روی ریشه خودشان جذب مواد تغذیه‌ای بهتر و تولید بالاتری دارند (۳۲). ریزازدیادی از طریق کشت بافت یک روش مطمئن برای تولید انبوه و سالم گیاه در تعداد زیادی از گونه‌های درختان میوه است (۳۶).

اطلاعات مربوط به تکثیر درون‌شیشه‌ای زردآلو در مقایسه با دیگر گونه‌های پرونوس محدود است. اولین گزارش‌های منتشر شده در مورد ریزازدیادی زردآلو مربوط به اواخر دهه ۱۹۷۰ است (۳۰). ریزازدیادی زردآلو توسط چندین پژوهشگر با استفاده از کشت جوانه‌های جانبی بررسی شده است (۹، ۱۱، ۱۶، ۲۴، ۲۸ و ۳۱). شرایط بهینه برای پرآوری و موفقیت در ریزازدیادی زردآلو بستگی زیادی به ژنوتیپ دارد (۱۱، ۱۶، ۲۸ و ۳۱). هم‌چنین گزارش‌هایی وجود دارد که نشان می‌دهد ظرفیت تکثیر از طریق شاخساره جانبی در برخی از ژنوتیپ‌های زردآلو کم است یا اصلاً وجود ندارد (۱۶ و ۳۰). کارهایی که پرز تورنر بورگاس و همکاران در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ (۲۷، ۲۸ و ۲۹) بر روی واریته زردآلو قدیمی اسپانیایی کانینو (Canino) انجام داده‌اند بیشتر برای شناسایی یک محیط کشت مناسب به‌منظور پشتیبانی از رشد سالم و افزایش پرآوری بوده است. در پژوهشی دیگر بر روی چهار واریته زردآلو آنها متوجه شدند که بقای مریستم در محیط کشت به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر واریته است و نیز اثرات متقابلی بین غلظت BA با واریته و بین اسید جیبرلیک (GA) با BA وجود دارد (۹ و ۳۷).

بنزیل آدنین به‌عنوان مؤثرترین سایتوکنین برای پرآوری شاخه‌های زردآلو توسط چندین پژوهشگر توصیه شده است (۲۴ و ۲۹). غلظت بهینه BA در محیط کشت بستگی زیادی به واریته دارد. بالاترین میزان تولید نمونه‌های گیاهی در ارقام بولیدا، هلنا و لورنا (Búlida, Helena and Lorna) زردآلو در غلظت ۴/۴۴ میلی‌مول بنزیل آدنین بود، درحالی‌که در پرآوری بهینه، در واریته کانینو در غلظت ۱/۷۸ میلی‌مول بنزیل آدنین است (۲۹). حمد سلیمان در سال ۲۰۱۲ تأثیر پنج نوع محیط پایه (MS, 1/2MS, WPM, B5, QL) همراه با تنظیم کننده رشدی را بر تکثیر درون‌شیشه‌ای زردآلو واریته ایل- هماوی (El-Hamawey) بررسی کردند. بیشترین میزان بقاء در محیط WPM غنی شده با یک میلی‌گرم در لیتر زآتین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA در حضور ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر اسید آسکوربیک و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر اسید سیتریک به‌دست آمد. بالاترین میانگین تعداد شاخه جدید (۵/۳۷) در محیط WPM غنی شده با ۴ میلی‌گرم BA و ۰/۵ میلی‌گرم 2ip به‌دست آمد. بالاترین درصد ریشه‌دهی شاخه‌های نابه‌جا بر روی محیط MS با ۲ میلی‌گرم IBA و ۰/۵ میلی‌گرم NAA قبل از انتقال به یک دوره ۱۶ ساعت روشنایی به‌دست آمد. مارینو و همکاران (۱۹۹۳) میزان موفقیت ۷۰ درصدی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده را با استفاده از محیط ریشه‌زایی MS به‌همراه اسید ایندول بوتریک (IBA) گزارش کردند.

گسترده‌ترین کاربرد عملی فنون کشت بافت در باززایی و تکثیر رویشی گیاهان می‌باشد. در کاربرد فنون کشت بافت سه هدف اولیه شامل حذف بیماری و در نتیجه تولید گیاهان عاری از آن، تولید گیاهان هم‌گروه در سطح زیاد است (۱۴). آلودگی در کشت درون‌شیشه‌ای یک مشکل جدی به‌ویژه در گیاهان چوبی چندساله است و موفقیت در ریزازدیادی گیاهان بستگی

زیادی به جلوگیری از آلودگی در کشت بافت دارد (۴، ۶، ۱۷ و ۱۹). مشکل دیگر گیاهان چوبی قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها در حین کشت درون‌شیشه‌ای است که در مقایسه با گیاهان علفی بیشتر دیده می‌شود (۲). قهوه‌ای شدن ارتباط مستقیمی با زخمی شدن بافت گیاهی و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (PPO) دارد (۲۱). مواد مختلفی از جمله هیپوکلریت سدیم تجاری، اتانول ۷۰٪ و کلرید جیوه در غلظت‌های متفاوت و مدت زمان‌های متفاوت به‌منظور ضدعفونی سطحی و استقرار ریزنمونه‌ها در گیاهان چوبی تاکنون مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۲۲، ۲۳ و ۲۶). از اسید سیتریک بیشتر به‌منظور جلوگیری از واکنش قهوه‌ای شدن استفاده شده است (۱۲). پرز- تورنرو و همکاران (۲۷) تکنیک‌های موفقی از کشت نوک مریستم را توسعه دادند که برای حذف باکتری‌های پایدار خاک‌زی معمول در مناطق پرورشی درختان میوه استفاده می‌شدند. وحدت‌پور و همکاران (۳۳) بر روی اثر آنتی‌اکسیدانتی زردچوبه در مقایسه با زغال فعال و اسید آسکوربیک در گیاه نارون چینی (*Ulmus parvifolia* Jasq.) نتایجی مبنی بر افزایش رشد کالوس در تیمار حاوی اسید آسکوربیک با غلظت ۱ درصد و تیمار زردچوبه با غلظت ۰/۱ درصد به‌دست آوردند.

گزارش‌های کمی در مورد ریزازدیادی زردآلو به‌صورت تجاری وجود دارد و تاکنون پژوهشی در مورد ریزازدیادی ارقام ایرانی زردآلو گزارش نشده است. از آنجایی‌که در زردآلو، ژنوتیپ در تعیین محیط کشت و غلظت و ترکیب تنظیم کننده رشد گیاهی مورد نیاز تأثیر زیادی دارد در این تحقیق سعی گردید در ابتدا به استقرار ریزنمونه‌های عاری از پاتوژن پرداخته و سپس تأثیر تنظیم کننده رشد گیاهی مناسب برای پرآوری و ریشه‌زایی شاخسارهای جانبی زردآلو بررسی گردد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: مواد گیاهی از درختان جوان زردآلوی واریته‌های محلی قوامی، رجبعلی، خیوه‌ای از باغ تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود واقع در منطقه بسطام شهرستان شاهرود جمع‌آوری شد.

تیمارهای ضدعفونی ریزنمونه: برای ضدعفونی قطعه‌های شاخه حاوی گره به طول ۱۰ تا ۱۵ سانتی‌متر تهیه در دو فصل بهمن ماه (فصل رکود) و فروردین ماه (شروع رشد بهاره) به آزمایشگاه منتقل شد. شاخه‌ها با مایع ظرف‌شویی به‌مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده سپس به‌مدت ۲ ساعت در برابر آب جاری قرار گرفتند، سپس شاخه‌ها به قطعاتی با یک گره تقسیم شدند و تیمارهای ضدعفونی زیر روی آنها اعمال گردید.

تیمارهای ضدعفونی برای شاخه‌های یک‌ساله در فصل رکود (بهمن ماه):

۱. شاهد (محیط کشت بدون ریزنمونه)
۲. الکل ۷۰٪ به‌مدت ۲ دقیقه + اسید سیتریک (۰/۰۷٪) ۳ دقیقه
۳. الکل ۷۰٪ به‌مدت ۲ دقیقه + اسید سیتریک (۰/۰۷٪) ۳ دقیقه + کلرید جیوه ۴ دقیقه
۴. الکل ۷۰٪ به‌مدت ۲ دقیقه + اسید ستریک (۰/۰۷٪) ۳ دقیقه + هیپوکلرید سدیم ۲۰ دقیقه
۵. الکل ۷۰٪ به‌مدت ۲ دقیقه + اسید سیتریک (۰/۰۷٪) ۳ دقیقه + هیپوکلرید سدیم ۲۰ دقیقه + کلرید جیوه ۴ دقیقه

پنج تیمار ضدعفونی روی شاخه‌های رشد فصل جاری بهاره:

۱. شاهد (محیط کشت بدون ریزنمونه)
۲. کلرید جیوه (۰/۰۱٪) به‌مدت ۴ دقیقه، اسید سیتریک (۰/۰۷٪) ۶ دقیقه
۳، ۴ و ۵. الکل (۷۰٪) به‌مدت ۲ دقیقه، اسید سیتریک (۰/۰۷٪) ۱۰ دقیقه، هیپوکلرید سدیم به‌مدت (۱۰- ۱۵- ۲۰) دقیقه

بعد از اعمال تیمار ضدعفونی، ریزنمونه‌ها در محیط کشت WPM (لویید و مکوان، ۱۹۸۰) غنی‌شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۴ میلی‌گرم در لیتر IBA کشت شدند. نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد با ۱۶ ساعت

روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت و پس از حدود یک هفته آلودگی‌های قارچی، باکتریایی و میزان قهوه‌ای شدن بررسی گردید. آزمایش‌ها به‌صورت طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت و در هر تکرار (شیشه کشت) چهار ریزنمونه کشت گردید.

استقرار: در مرحله استقرار ریزنمونه های سه واریته از شاخه‌های رشد فصل جاری تهیه و با کلرید جیوه و اسید سیتریک ضدعفونی در محیط‌های کشت WPM و MS (موراشینگ و اسکوگ، ۱۹۶۲) با نیم میلی‌گرم در لیتر BAP کشت شدند. واکشت هر دو هفته یک‌بار صورت گرفته و نمونه‌ها در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در اتاقک رشد با ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفت. در این مرحله درصد جوانه‌زنی و رویش جوانه‌های خفته در محل گره‌ها مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. این پژوهش به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل سه واریته محلی قوامی، رجبعلی، خیوه‌ای و فاکتور دوم شامل دو محیط کشت WPM و MS بود. هر کرت شامل سه شیشه آزمایشی و در هر شیشه چهار ریزنمونه کشت گردید.

پرآوری: پس از مرحله استقرار، ریزنمونه‌ها با جوانه‌های جانبی رشد کرده از سه واریته برای پرآوری در محیط کشت WPM با تیمار تنظیم‌کننده رشد گیاهی BAP در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر، IBA ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر، GA3 دو میلی‌گرم در لیتر کشت شدند. در انتهای مرحله پرآوری تعداد شاخه تولید شده و طول شاخساره اندازه‌گیری شد. این پژوهش نیز به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول شامل سه واریته محلی قوامی، رجبعلی، خیوه‌ای و فاکتور دوم BAP در سه غلظت (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) بود. تعداد نمونه در هر واحد آزمایشی ۴ عدد در نظر گرفته شد.

ریشه زایی: برای ریشه زایی از محیط نصف غلظت MS با تیمار IBA در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به‌همراه سه درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار استفاده گردید. به‌دلیل آلودگی و تعداد بسیار کم ریزنمونه‌های ریشه‌دار، امکان آنالیز آماری در این مرحله فراهم نشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: آنالیز داده‌ها با استفاده از برنامه SAS 9.1 و نمودار با نرم‌افزار Excel رسم گردید. مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD صورت گرفت. به‌دلیل نرمال نبودن داده‌های در تیمارهای ضدعفونی وتعداد شاخه در پرآوری از ریشه دوم آنها در آنالیز آماری استفاده شد.

نتایج و بحث

ضدعفونی: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای ضدعفونی بروی شاخه‌های یک‌ساله در فصل رکود نشان‌دهنده اثر معنی‌دار تیمارهای ضدعفونی در میزان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی در سطح یک درصد بود (جدول ۱). پس از ۱۰ روز، ریزنمونه‌ها در تیمار ضدعفونی الکل با اسید سیتریک و الکل، اسید سیتریک، هیپوکلرید سدیم و کلرید جیوه کمترین میزان آلودگی باکتریایی را نشان دادند و بیشترین میزان آلودگی به‌میزان ۱۰۰ درصد در تیمار سوم (الکل + اسیدسیتریک + هیپوکلرید سدیم) مشاهده شد (جدول ۲). آلودگی قارچی فقط در تیمار الکل با اسید سیتریک به مقدار ۱۵ درصد دیده شد (جدول ۲).

نتایج تجزیه واریانس حاصل از اثر تیمارهای مختلف ضدعفونی بر روی آلودگی قارچی و قهوه‌ای شدن در شاخه‌های رشد فصل جاری در بهار در جدول ۳ نشان داده شده است. با افزایش مدت زمان استریل کردن با هیپوکلرید سدیم میزان آلودگی قارچی تا حد ۱۵ درصد کاهش پیدا کرد ولی گیاه‌سوزی و میزان قهوه‌ای شدن در ریزنمونه‌ها بیشتر مشاهده شد (جدول ۴). در تیمار ضدعفونی با کلرید جیوه آلودگی مشاهده نشده ولی تمامی ریزنمونه‌ها قهوه‌ای

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر تیمارهای ضدعفونی بر میزان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی و میزان قهوه‌ای شدن شاخه‌های چوبی زردآلو در فصل زمستان در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات		
		آلودگی باکتریایی	آلودگی قارچی	میزان قهوه‌ای شدن بافت
تیمار ضدعفونی	۴	۴۳/۴۴**	۸/۸۲**	۳۲/۴۶**
خطا	۱۰	۲/۲۰	۰/۰۸	۰/۰۸۹
CV%		۲۲/۱۴	۲۳/۱۹	۲۷/۷۲

**: اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

جدول ۲. اثر تیمارهای مختلف ضدعفونی بر درصد آلودگی‌های قارچی، باکتریایی و قهوه‌ای شدن بافت در ۱۰ روز پس از کشت در ریزنمونه‌های تهیه شده از شاخه‌های یک‌ساله زردآلو در فصل زمستان

تیمار	درصد آلودگی باکتریایی	درصد آلودگی قارچی	درصد بافت قهوه‌ای شده
محیط کشت فاقد ریزنمونه	۰ d	۰ b	۰ c
الکل + اسیدسیتریک	۴۲ c	۱۵ a	۱۴ b
الکل + اسیدسیتریک + کلرید جیوه	۷۱ b	۰ b	۴۱ a
الکل + اسیدسیتریک + هیپوکلرید سدیم	۱۰۰ a	۰ b	۰ c
الکل + اسیدسیتریک + هیپوکلرید سدیم + کلرید جیوه	۴۵ bc	۰b	۴۰ a

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.01$) نمی‌باشند.

جدول ۳. تجزیه واریانس اثر تیمارهای ضدعفونی بر میزان آلودگی‌های قارچی و باکتریایی و میزان قهوه‌ای شدن شاخه‌های فصل جاری زردآلو در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	صفات	
		آلودگی قارچی	میزان قهوه ای شدن بافت
تیمار ضدعفونی	۴	۴۹/۲۲**	۵۱/۸۹**
خطا	۱۰	۰/۷۵	۱/۳۹
CV%		۱۹/۲۴	۲۶/۸۹

**: اختلاف معنی‌دار در سطح ۱ درصد

شدند (جدول ۴).

با وجود عدم آلودگی باکتریایی در ریزنمونه‌های جدا شده از شاخه های فصل جاری (جدول ۴)، آلودگی باکتریایی در تمام تیمارها که بروی شاخه‌های در حال رکود انجام شده بود به‌میزان کم و یا زیاد مشاهده گردید (جدول ۳) و این در حالی بود که بیشتر آلودگی شاخه‌های رشد فصل جاری از نوع قارچی است (جدول ۴). به‌نظر می‌رسد که ضدعفونی سطحی در شاخه‌های یک‌ساله در حال رکود به‌دلیل داشتن بافت خشبی و زبر و داشتن فلس‌های چوبی با مشکلات فراوانی روبروست. هر قدر میزان کرک و یا واکس سطحی در ریزنمونه کمتر باشد، سطح تماس مواد ضدعفونی سطحی افزایش یافته و اثرگذاری آنها نیز بهبود می‌یابد. برای کاهش آلودگی می‌توان نهال‌های

جدول ۴. اثر تیمارهای مختلف ضدعفونی بر درصد آلودگی‌های قارچی، باکتریایی و قهوه‌ای شدن بافت در ۷ روز پس از کشت در ریزنمونه‌های تهیه شده از شاخه‌های رشد فصل جاری زردآلو در فصل بهار

تیمار	درصد آلودگی باکتری	درصد آلودگی قارچی	درصد بافت قهوه‌ای شده
محیط کشت فاقد ریزنمونه	۰	۰ d	۰ d
کلرید جیوه + اسید سیتریک	۰	۰ d	۱۰۰ a
اسید سیتریک + الکل + هیپوکلرید سدیم ۱۰ دقیقه	۰	۱۰۰ a	۰ d
اسید سیتریک + الکل + هیپوکلرید سدیم ۱۵ دقیقه	۰	۵۰ b	۱۳ c
اسید سیتریک + الکل + هیپوکلرید سدیم ۲۰ دقیقه	۰	۱۵ c	۵۵ b

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.01$) نمی‌باشند.

پیوندی را در یک محیط ایزوله گلخانه‌ای پرورش داد. اسنیر (۳۱) اولین بار برای جلوگیری از مشکلات آلودگی‌های شدید بعدی در شرایط مزرعه‌ای از اتاقک رشد برای پرورش شاخه‌های رقم زردآلوی 'Canino' استفاده کرد.

مهم‌ترین ماده ضدعفونی کننده‌ای که در اغلب پژوهش‌های کشت بافت استفاده شده است، هیپوکلرید سدیم است (۲۳). اما استفاده از هیپوکلرید سدیم به‌تنهایی برای استریل ریزنمونه به‌ویژه در گونه‌های چوبی کافی نیست و هم‌چنین مدت زمانی که یک بافت گیاهی را می‌توان با این تیمار ضدعفونی کرد بستگی به خشبی یا علفی بودن بافت دارد. همان‌طورکه در این آزمایش مشاهده شد استفاده از کلرید جیوه ۰/۰۱ درصد برای جلوگیری از آلودگی باکتریایی و قارچی بهترین تیمار بود. از کلرید جیوه بیشتر برای ضدعفونی سطحی در گیاهان چوبی چندساله استفاده شده است (۱۰ و ۲۶). در هنگام استفاده از کلرید جیوه بافت قهوه‌ای گردید. استفاده از کلرید جیوه به‌عنوان ماده ضدعفونی‌کننده می‌تواند دلیل قهوه‌ای شدن بافت ریزنمونه ها باشد. استفاده از کلرید جیوه و نیترات نقره، به‌دلیل خاصیت ترکیب‌پذیری بالای آنها با پروتئین‌ها می‌تواند باعث بافت‌مردگی و در نتیجه قهوه‌ای شدن بافت شود (۳۸). قهوه‌ای شدن در تیمارهای ضدعفونی به‌دلیل آسیب‌های بافتی در حین تهیه ریزنمونه و استریل آنها به‌وجود می‌آید که منجر به تولید ترکیبات فنولی می‌شود (۱۱). برای کاهش قهوه‌ای شدن بافت استفاده از زغال فعال، آسکوربیک اسید، اسید سیتریک، تعویض محیط کشت و تاریکی توسط پژوهشگران زیادی توصیه شده است (۱۳ و ۳۳). در این پژوهش نیز برای کاهش میزان قهوه‌ای شدن پس از تیمار با کلرید جیوه از اسید سیتریک به‌همراه چندین بار واکشت تا استقرار کامل استفاده شد.

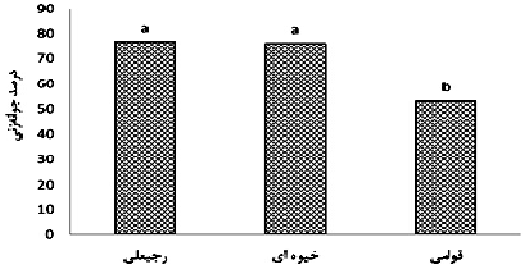
استقرار: نتایج درصد رویش جوانه‌ها از محل گره‌ها در سه واریته زردآلو در مرحله استقرار در طول فصل بهار نشان داد که اختلاف معنی‌داری در سطح یک درصد در بین سه واریته وجود دارد (جدول ۵). بیشترین درصد جوانه‌زنی جوانه‌های جانبی خفته در واریته رجبعلی به‌میزان ۷۶/۶۶ درصد (شکل ۱) و واریته قوامی به مقدار ۵۳/۱۳ درصد کمترین جوانه زنی مشاهده شد. بین واریته های رجبعلی و خیوه‌ای اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۲). هم‌چنین نتایج به‌دست آمده از جدول تجزیه واریانس نشان داد که بین دو محیط کشت MS و WPM از لحاظ درصد جوانه‌زنی جوانه‌ها در سه واریته زردآلو اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۳). استفاده از محیط کشت‌های متفاوت برای استقرار زردآلو توسط چندین محقق بررسی شده است (۷ و ۲۸). پرز- تورنرو و همکاران (۲۹) محیط کشت WPM را برای استقرار و ریزافزایی ارقام مختلف زردآلو مناسب تشخیص دادند. دژم پور و همکاران (۷) برای استقرار و پرآوری نژادگان HS314 و GF677، محیط MS تغییر یافته را مناسب‌ترین محیط معرفی کردند درحالی‌که برای نژادگان HS302 محیط WPM بهترین نتیجه را داد، ولی در این پژوهش

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس درصد جوانه‌زنی سه رقم زردآلو در دو محیط کشت MS و WPM

منابع تغییرات	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی
رقم	۲	۱۰/۰۲**
محیط کشت	۱	۸/۰۲ns
محیط کشت در رقم	۲	۷۴/۶۹ns
خطا	۱۲	۱۵۱/۹
CV%		۲۸/۵

**: معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ns عدم اختلاف آماری معنی‌دار

شکل ۱. رویش جوانه‌های جانبی در زردآلوی رجبعلی پس از چهار هفته کشت در محیط MS



شکل ۲. درصد جوانه‌زنی جوانه‌های رویشی سه واریته زردآلو در مرحله استقرار. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.

اختلاف معنی‌داری بین محیط کشت‌های MS و WPM مشاهده نشد.

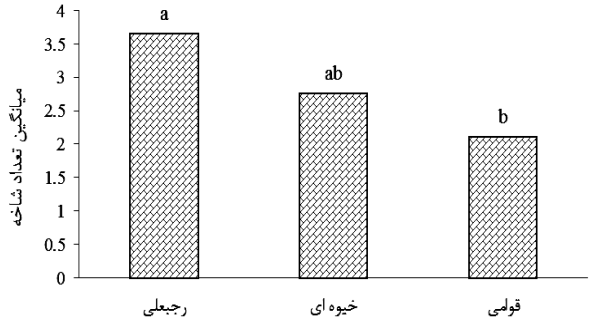
پرآوری: نتایج تجزیه واریانس اثر تنظیم کننده رشد گیاهی و واریته بر تعداد شاخه تولیدی زردآلو نشان داده که بین تیمارهای تنظیم کننده رشد گیاهی و واریته به‌صورت اثرات ساده و اثر متقابل تنظیم کننده رشد گیاهی و واریته اختلاف معنی‌داری در سطح یک و پنج درصد وجود دارد (جدول ۶). واریته رجبعلی بیشترین میانگین تعداد شاخه با میانگین ۳/۶۶ عدد در هر ریزنمونه و واریته قوامی کمترین میانگین تعداد شاخه به‌میزان ۲/۱۱ عدد داشتند (شکل ۳ و ۴). تأثیر تنظیم کننده رشد گیاهی BAP روی تعداد شاخه در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌مقدار ۳/۴۱ عدد بیشترین و در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر به تعداد ۲/۳۳ کمترین مقدار را نشان داد. بین تیمارهای ۲ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵). بیشترین تعداد شاخه در واریته رجبعلی در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و کمترین تعداد شاخه در واریته قوامی با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم درلیتر مشاهده شد (شکل ۶). در ارقام قوامی و رجبعلی در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با میانگین ۳ و ۶ عدد شاخه بیشترین مقدار و کمترین مقدار در واریته قوامی و رجبعلی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب با میانگین ۱/۶۶ و ۲ عدد شاخه پرآوری شده مشاهده شد. بیشترین تعداد شاخه در واریته خیوه‌ای در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به تعداد ۳/۳ عدد و کمترین تعداد شاخه در واریته خیوه‌ای در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر ۲/۳ عدد مشاهده شد (شکل ۶).

نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس اثر BAP و واریته‌های زردآلو بر صفت طول شاخه نشان داد که واریته و اثر متقابل (واریته و تنظیم کننده رشد گیاهی) در سطح یک درصد و اثر ساده تنظیم کننده رشد گیاهی در سطح پنج درصد معنی‌دار

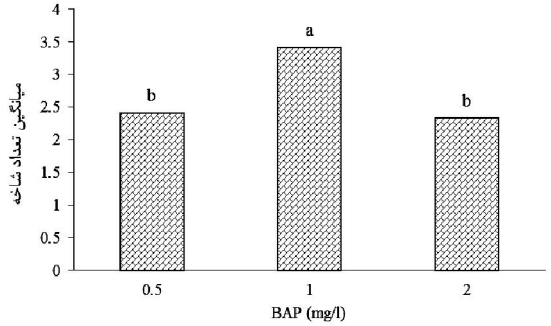
جدول ۶. تجزیه واریانس اثر BAP و واریته بر تعداد و طول شاخه پرآوری شده در زردآلو

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد شاخه	طول شاخه
واریته	۲	۳/۸۲*	۲۳/۳۲**
تنظیم کننده رشد گیاهی	۲	۴/۱۹*	۴/۶۶*
واریته × تنظیم کننده رشد گیاهی	۴	۳/۳۴*	۵/۷۲**
خطا	۱۸	۰/۱۰۴	۰/۱۱
CV%		۱۹/۸۳	۲۴/۴۱

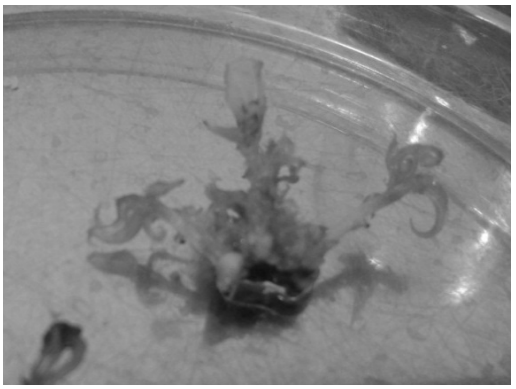
* و **: به‌ترتیب اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪



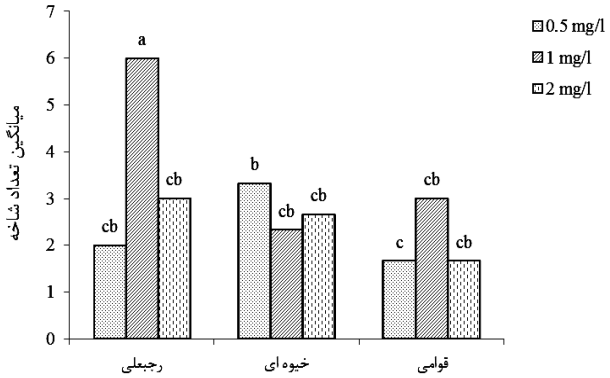
شکل ۳. میانگین تعداد شاخه‌های پرآوری شده سه واریته زردآلو در کشت درون‌شیشه‌ای میلی‌گرم در لیتر BAP. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.



شکل ۵. تأثیر غلظت‌های BAP در تعداد شاخه پرآوری شده زردآلو در کشت درون شیشه‌ای. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.



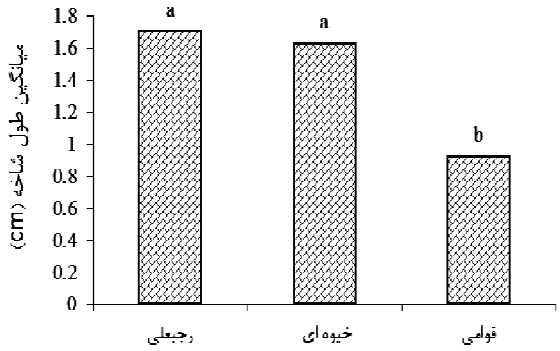
شکل ۴. شاخه‌های پرآوری شده واریته رجبعلی پس از سی روز در محیط WPM در غلظت یک میلی‌گرم درلیتر BAP



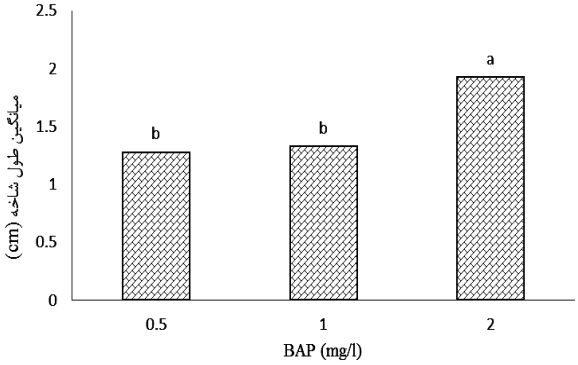
شکل ۶. اثر BAP بر تعداد شاخه پرآوری شده سه واریته زردآلو کشت شده در محیط WPM. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.

هستند (جدول ۶). واریته رجبعلی بیشترین طول شاخه به‌میزان ۱/۷ سانتی‌متر و کمترین طول شاخه در واریته قوامی با میانگین ۰/۹۲ سانتی‌متر مشاهده شد. بین واریته‌های رجبعلی و خیوه‌ای اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۷).

در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر از BAP بیشترین طول شاخه با میانگین ۱/۹۲ سانتی‌متر و کمترین طول شاخه در غلظت ۰/۵



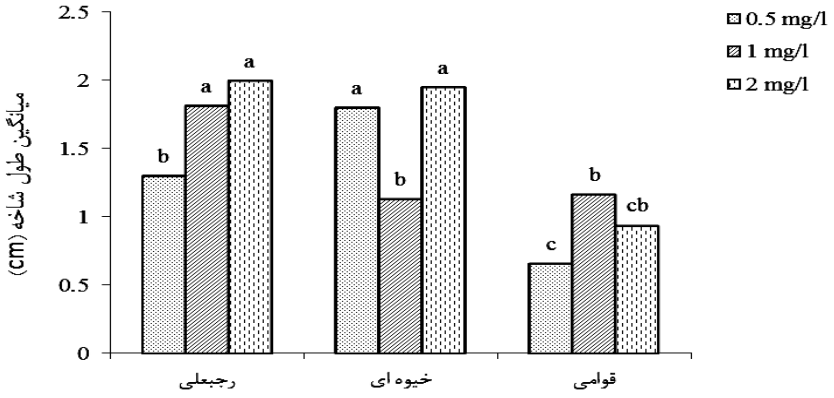
شکل ۷. میانگین طول شاخه تولید شده در سه واریته زردآلو در شرایط کشت بافتی. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) نمی‌باشند.



شکل ۸. تأثیر BAP بر میانگین طول شاخه زردآلو در شرایط کشت درون شیشه ای. اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.05$) نمی‌باشند.

میلی‌گرم در لیتر برابر ۱/۲۷ سانتی‌متر مشاهده شد (شکل ۸). بیشترین طول شاخه در تیمار دو میلی‌گرم در لیتر BAP در واریته رجبعلی به میزان ۲ سانتی‌متر و کمترین در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP در واریته قوامی به میزان ۰/۶۶ سانتی‌متر مشاهده شد (شکل ۹). در واریته های رجبعلی و خیوه‌ای بیشترین طول شاخه مربوط به غلظت دو میلی‌گرم در لیتر به‌ترتیب برابر ۲ و ۱/۹۵ سانتی‌متر بود و کمترین مقدار در واریته رجبعلی در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ۱/۳ سانتی‌متر و واریته خیوه‌ای در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر ۱/۱۳ سانتی‌متر مشاهده شد. در واریته قوامی بیشترین طول شاخه در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. در واریته قوامی بیشترین طول شاخه در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر و کمترین مقدار در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر را نشان داد درحالی‌که در سایر واریته‌ها غلظت دو میلی‌گرم در لیتر طول شاخه بهتری تولید کرد (شکل ۹). بنزیل آدنین بیشترین سایتوکنین مورد استفاده برای پرآوری شاخه زردآلو است (۲۴ و ۳۷). منحنی غلظت مصرفی تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و واکنش‌های بیولوژیکی به شکل زنگوله‌ای است. غلظت‌های پایین‌تر اثرات تحریک‌کننده دارند به‌حدی که به ماکزیمم می‌رسد و بعد از آن اثر بازدارنده از خود نشان می‌دهد (۱). اما در واریته خیوه‌ای این روند مشاهده نمی‌شود. احتمال دارد که در واریته خیوه‌ای غلظت‌های بالاتری از BAP نتایج بهتری در پرآوری داشته باشد. تفاوت در تأثیر تنظیم کننده رشد گیاهی در ارقام مختلف نشان‌دهنده تأثیر ژنوتیپ است. مورای و همکاران (۲۴) مشاهده کردند غلظت های بالاتر بنزیل آدنین موجب کاهش تعداد شاخه تولید شده در زردآلو می شود، این کاهش تعداد شاخه در واریته‌های رجبعلی و قوامی مشاهده شده است.

طول شاخه در واریته رجبعلی با افزایش غلظت تنظیم کننده رشد افزایش یافت اما در واریته قوامی یک کاهش در غلظت دو میلی‌گرم در لیتر و در واریته خیوه‌ای در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد (شکل ۹). در مرحله پرآوری برای طویل شدن و ایجاد رشد طولی در پایه رویشی GF677 استفاده از جیبرلیک اسید بسیار سودمند است (۱۵). در این آزمایش نیز در مرحله پرآوری برای ایجاد رشد طولی به محیط های کشت به میزان دو میلی گرم در لیتر جیبرلین افزوده شد. جیبرلین در بزرگ شدن سلول نقش دارد که موجب افزایش طول میان‌گره می شود. سایتوکنین با افزایش تقسیم سلولی بر تعداد گیاه می‌افزاید (۱). طول شاخه در غلظت‌های مختلف بنزیل آدنین در ارقام مختلف نتایج متفاوتی دارد به‌طوری‌که مارینو و همکاران (۲۰) گزارش کردند غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آدنین بهترین نتیجه را در واریته پورتیچی و سان کسترز



شکل ۹. اثر تنظیم کننده رشد گیاهی BAP بر طول شاخه پرآوری شده سه واریته زردآلو

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P < 0.01$) نمی‌باشند.

(San Castrese and Portici) دارد. در این پژوهش نیز تأثیر مثبت بنزیل آدنین و جیبرلین روی طول شاخه در واریته‌های مختلف متفاوت است. این تفاوت در گونه‌های چوبی دیگر نیز به‌وسیله والز و بوکسوس (۳۴) گزارش شد.

با وجود اینکه در بیشتر مطالعات انجام شده روی ریزازدیادی ارقام زردآلو ریشه‌دهی آسان در کشت درون‌شیشه‌ای گزارش شده است (۲۸ و ۲۹) اما شاخه‌های پرآوری شده که به محیط ریشه‌زایی منتقل شدند بعد از ۲۰ روز کشت، اغلب آنها از بین رفتند. اگرچه گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهد میزان ریشه‌دهی بسته به ژنوتیپ متفاوت است (۲۹) اما آنچه در از بین رفتن شاخساره‌ها بیشتر مشهود بود از بین رفتن ریزنمونه‌ها در اثر آلودگی با وجود انتقال آنها در شرایط استریل بود. آلودگی‌های درونی و بیرونی می‌توانند باعث کاهش شدید رشد گیاهان تکثیری در هر مرحله رشدی بشوند (۴ و ۱۸). آلودگی باکتریایی به‌دلیل اینکه به‌صورت درونی هستند اغلب به سختی تشخیص داده می‌شوند (۵ و ۳۵). گیاهان آلوده ممکن است هیچ علائم قابل مشاهده‌ای نداشته باشند و فقط کاهش تکثیر و سرعت ریشه‌دهی یا مرگ گیاه را به‌همراه داشته باشند (۱۸). افزایش میکروارگانیسم‌ها به‌علت تکنیک ضعیف استریل کردن یا محیط استریل شده نامناسب باشد که می‌تواند با آموزش یا بررسی محیط اصلاح شود، اما حذف آلودگی‌های درونی مشکل‌تر است (۳). وجود این آلودگی‌ها اهمیت استفاده از تکنیک‌های کشت بافتی را برای تکثیر این واریته‌های را صد چندان می‌کند، چرا که درختان آلوده بدون داشتن علامت ظاهری عملکرد پایین‌تر و عمر اقتصادی کوتاه‌تری را خواهند داشت.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج فوق به‌طورکلی می‌توان بیان کرد که استفاده از کلرید جیوه برای ضدعفونی ریزنمونه‌ها مناسب است و بهترین شاخسارها برای نمونه‌گیری، شاخسارهای رشد سال جاری هستند. هم‌چنین درصد رشد جوانه‌های در محل گره واریته‌های مختلف زردآلو متفاوت است. محیط WPM برای کشت زردآلو در مرحله پرآوری مناسب است و استفاده از بنزیل آدنین به‌همراه جیبرلین در پرآوری زردآلو توصیه می‌شود. نتایج این پژوهش امکان پرآوری واریته های محلی زردآلو را فراهم می‌کند ولی برای تجاری‌سازی کشت بافت زردآلو لازم است آزمایش‌های تکمیلی برای مرحله ریشه‌زایی و سازگاری صورت پذیرد. با توجه به آلودگی‌های درونی در مراحل نهایی کشت بافت لزوم استفاده از تکنیک‌های حذف آلودگی و کشت مریستم در پژوهش‌های بعدی در واریته های محلی توصیه می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Arteca, R. N. 1996. Plant Growth Substances Principles and Applications. Springer Science and Business Media. The Pennsylvania State University.
2. Bagheri, M., M. Ziaratnia and M. Hosseini. 2004. In Vitro Culture of Trees. Ferdowsi University Press, Mashhad. (Translated).
3. Buckley, P. M., T. N. De Wilde and B. M. Reed. 1995. Characterization and identification of bacteria isolated from micropropagated mint plants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 31: 58-64.
4. Cassells, A. C. 1991. Problems in tissue culture: culture contamination, pp. 31–44. *In:* P. C. Debergh and R. H. Zimmerman (Eds.), Micropropagation. Kluwer Academic Publishers, Netherlands.
5. Debergh, P. C. and A. M. Vanderschaeghe. 1988. Some symptoms indicating the presence of bacterial contaminants in plant tissue culture. *Acta Horticulturae* 255: 77-81.
6. De Fossard, R. A. and H. De Fossard. 1988. Coping with microbial contaminants and other matters in a small commercial micropropagation laboratory. *Acta Horticulturae* 225: 167-176.
7. Dzham Poor, J., V. Geregoriyan, E. Majidi and N. Asgharzade. 2007. Sterilization, establishment and proliferation of some prunus interspesific hybrids for in vitro culture. *Journal of Horticultural Sciences of Iran* 8 (3): 165-174. (In Farsi).
8. FAO. 2011. http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/download/Q/*/E
9. Georgios, K. and V. Miltiadis. 2006. Improvement of in vitro propagation of apricot cultivar 'Bebecou'. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 85: 173-180.
10. Goudarzi, R., A. Mahedi, A. R. Talaie and M. Mostafavi. 1997. Micropropagation of cherry rootstock (*Prunus avium* CV F12/1) by shoot tip culture. *Iranian Journal of Agricultural Science* 28 (3): 133-143. (In Farsi).
11. Hemaid. I. A. S. 2012. In vitro propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) and assessment of genetic stability of micropropagated plants using RAPD analysis. *World Applied Sciences Journal* 19: 674-687.
12. Huang, L. C., Y. L. Lee, B. L. Huang, C. I. Kou and J. F. Shaw. 2002. High polyphenol oxidase activity and low titratable acidity in browning bamboo tissue culture. *In Vitro Cellular and Development Biology-Plant* 38: 358-365.
13. Ishtiaq, A., H. Tanveer, A. Irfan and N. Muhammad. 2013. Lethal effects of secondary metabolites on plant tissue culture. *American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Sciences* 13: 4. 539-547.
14. Izadi, N., K. Mashayekhi, E. Chamani and B. Kamkar. 2011. The influence of B_5 basal medium on morphological behavior of Lily (*Lilium longiflorum*) bulbscale in vitro. *Journal of Plant Production* 18: 1. 119-132. (In Farsi).
15. Kamali, K., E. Majidi, R. Zarghami. 2001. Suitable for micropropagation medium and growth conditions. Vegetative rootstocks GF677 (peach × almond hybrid). *Seed and Plant Journal* 17: 38-47. (In Farsi)
16. Kataeva, N. V. and M. A. Kramarenko. 1989. Clonal micropropagation of apricot Byuletten "Glavnogo Botanicheskogo Sada". *In*: Proceeding of IV International Symposium on In Vitro Culture and Horticultural Breeding 560. 153: 69-73.
17. Leifert, C., H. Camotia, S. M. Wright, B. Waites, V. A. Cheyne and W. M. Waites. 1991. Elimination of Lactobacillus plantarum, Corynebacterium spp., Staphylococcus saprophyticus and Pseudomonas paucimobilis from micropropagated Hemerocallis. Chaisya and Delphinium cultures using antibiotics. *Journal of Applied Bacteriology* 71: 307-330.
18. Leifert, C., W. M. Waites and J. R. Nicholas. 1989. Bactrial contamination of micropropagated plant tissue cultures. *Journal of Applied Bacteriology* 67: 353-361.
19. Loyd, G. and B. McCown. 1980. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, kalmia latifolia, by use of shoot tip culture. *International Plant Propagators' Society* 30: 421-427.
20. Marino, G., G. Bertazza, E. Magnanini and A. D. Altan. 1993. Comparative effects of sorbitol and sucrose as main carbon energy sources in micropropagation of apricot. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 34: 235-244.
21. Marks, T. and S. Simpson. 1990. Reduced phenolic oxidation at culture initiation in vitro following the exposure of field-grown stockplants to darkness or low levels of irradiance. *Horticultural Science* 65: 103-111.
22. Mashayekhi, K. 2001. The protein synthesis spectrum during the induction phase of somatic embryogenesis in carrot (*Daucus carota* L.) cultures and the role of nitrogen forms for embryo development. PhD. Thesis, Justus Liebig University, Giessen.
23. Mashayekhi, K. and K. H. Neumann. 2006. Effects of boron on somatic embryogenesis of Daucus carota. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 84: 279–283.
24. Murai, Y., H. Harada and H. Yamashita. 1997. In vitro propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. 'Bakuoh junkyou'. *Journal of Horticultural Science* 66: 475-480.
25. Murashinge, T., F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Plant Physiology* 15: 473-497.

26. Nazari, J., V. Payam noor and K. Ghasemi Bezdi. 2013. Optimization of surface sterilization treatments in two Birch (*Betula sp.*) species. *Journal of Plant Production* 20: 3. 159-186. (In Farsi).
27. Perez-Tornero, O., L. Burgos and J. Egea. 1999. Introduction and establishment of apricot in vitro through regeneration of shoots from meristem tips. *In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant* 35: 249-253.
28. Pérez-Tornero, O. and L. Burgos. 2000. Different media requirements for micropropagation of apricot cultivars. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63: 133-141.
29. Perez-Tornero, O., M. Lopez, J. Egea and L. Burgos. 2000. Effect of basal media and growth regulators on the in vitro propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. "Canino". *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 75: 283-286.
30. Skirvin, R. M., M. C. Chu and H. Rukan. 1979. Tissue culture of peach, sweet and sour cherry and apricot shoot tips. *Transactions of the Illinois State Horticultural Society* 113: 30-38.
31. Snir, I. 1984. In vitro propagation of 'Canino' apricot. *HortScience* 19: 229-230.
32. Thibault, B. and L. Herman. 1982. Culture of Bartlett on its own roots: comparisons with quince and French seedling rootstocks. *Acta Horticulturae* 124: 21-26.
33. Vahdatpour, F., K. Mashayekhi and M. Piri Zirkuhi. 2009. Investigation of ontioxidant effect turmeric in comparing with active coal and ascorbic acid in cultural medium of Ulmas pavrifolia Jasq. *Journal of Plant Production* 16: 2. 1-14. (In Farsi).
34. Valles, M. and P. Boxus. 1987. Micropropagation of several Rosa hybrida L. cultivars. *Acta Horticulturae* 212: 611-617.
35. Viss, P. R., E. M-Brooks and J. A. Driver. 1991. A simplified method for the control of bacterial contamination in woody plant tissue culture. *In Vitro Cellular and Developmental Biology* 27: 42-48
36. Yıldırım, H. 2006. 'Hacıhaliloğlu' kayısı (*Prunus armeniaca* L.) çeşidinin in vitro Çoğaltımı (In vitro propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) cultivar "Hacıhaliloğlu"), PhD. Thesis. Dicle Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Dicle, Turkey.
37. Yildrim, H., A. Onay, E. Tilkat and Z. Akturk. 2011. Micropropagation of the apricot (*Prunus armeniaca* L.) cv. Hacıhaliloğlu by means of single node culture. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 35: 55-64.
38. Zolfaghari nasab, R., M. Khosroshahli, V. Gerigoriyan and A. Motalebi Azar. 2004. Investigation on in vitro propagation of apricot × plum natural hybrid. *Journal of Horticultural Sciences of Iran* 5: 2. 81-92. (In Farsi).