# اثـر تنظیم کننده‌های رشـد گیاهی بر انـدام‌زایی گونه زالزالک ایروانی (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.) در کشت درون شیشه‌ای

فاطمه احمدلو[۱]، مسعود طبری کوچکسرایی[۲*]، پژمان آزادی[۳]
آیدین حمیدی[۴] و ابراهیم بیرامی‌زاده[۵]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۲/۳۰ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۲/۱۷)

## چکیده

**زالزالک از تیره گل سرخ (*Rosaceae*) و از جمله درختانی است که دارای مصارف دارویی، زینتی و ارزش صادراتی است. ارزیابی مرحله شاخه‌زایی گونه *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark. با استفاده از غلظت‌های مختلفی از تنظیم کننـده‌هـای رشـد در شـرایط درون شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه‌های تک گره حاوی جوانه جانبی مورد بررسی قرار گرفت. سرشاخه‌های رشد یافته از جوانه‌های گره‌ای، در ۳۰ تیمار مختلف از هورمون‌های BAP، KIN، 2iP، Zt در ترکیب با NAA هریک در سه تکرار کشت شدند که هر تکرار حاوی ۵ ریزنمونه بود. داده‌ها پس از سه واکشت تجزیه و تحلیل گردید. برای آزمایش ریشه‌زایی، قسمت انتهایی سـاقه در محلـول ۳۰۰ میلـی‌گـرم در لیتـر هورمون IBA در زمان‌های مختلف شامل ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه قرار داده و سپس در محیط کشت VS ۱/۲ بدون هورمون IBA کشت شدند. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میزان شاخه‌زایی (۳۹/۳۳ عدد) در تیمـار ۸ میلـی‌گـرم در لیتـر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، بزرگ‌ترین طول شاخه (۴/۶۷ سانتی‌متر) در تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و بیشترین میزان اندازه برگ (۳/۷۳ سانتی‌متر) در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر Zt در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد. بیشترین درصد ریشه‌زایی (۳۳/۳۳ درصد) و تعداد ریشه (۴ عدد) در ۴۰ دقیقه غوطه‌وری در هورمون IBA مشاهده شد.**

**واژه‌های کلیدی: بنزیل آمینوپورین، سایتوکینین، شاخساره، کشت تک گره ساقه، نفتالین استیک اسید**

۱ و ۲. به‌ترتیب دانشجوی دکتری و استاد، گروه جنگل‌داری دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه تربیت مدرس
۳. استادیار پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج
۴. استادیار مؤسسه تحقیقات ثبت و گواهی بذر و نهال، کرج
۵. مربی پژوهشی ایستگاه ملی تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات
*. مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: mtabari@modares.ac.ir



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

## مقدمه

جنس زالزالک (*Crataegus* L.) از طایفه *Crataegeae*، زیر تیره *Maloideae* متعلق به تیره رز (*Rosaceae*) است. در ایران حدود ۲۲ گونه و ۵ هیبرید از این جنس وجود دارد که از این تعداد ۴ گونه بومزاد، ۵ گونه نادر و ۴ گونه در حال انقراض است (۱۶). زالزالک‌ها دارای ویژگی سازگاری بالا نسبت به خشکی و سرما، بهترین پایه برای پیوند به، گلابی و سیب، خواص دارویی و ارزش صادراتی و کاربرد در فضای سبز شهری می‌باشند. این گیاهان به‌دلیل دارا بودن میوه پارتنوکارپیک (تشکیل و رشد میوه بدون تلقیح تخمک‌ها) و یا گسترش آندوکارپ بدون لقاح بذر واقعی، جوانه‌زنی بذر آنها با مشکلاتی همراه است (۸). بذرها دارای خواب فیزیکی (مقاومت مکانیکی پوسته) و خواب جنین می‌باشند و جوانه‌زنی آنها ممکن است ۲ تا ۳ سال طول بکشد (۱۳). در این راستا روش کشت درون شیشه‌ای امکان رشد سریع و تولید با کیفیت بالای گیاهان را می‌دهد و ابزاری مناسب برای رسیدن به اهدافی است که در شرایط کشت در محیط طبیعی دست‌یابی به آنها دشوار است و برای حفاظت ژرم پلاسم و بهبود ژنتیکی گونه‌ها نیز مفید می‌باشند (۲۶). در این رابطه کشت جوانه حاصل از سرشاخه به‌دلیل همسانی گیاه حاصل از کشت به والد، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. مرحله شاخه‌زایی از مهم‌ترین مراحل تجاری سازی در کشت بافت محسوب می‌شود و در بین ترکیبات محیط کشت، تنظیم کننده‌های رشد به ویژه سایتوکینین‌ها نقشی بسیار تعیین کننده در میزان شاخه‌زایی و رشد سلول‌های گیاهی دارند.

چندین مطالعه در رابطه با کشت بافت خانواده *Rosaceae* انجام گرفته است. لاپیچینو و آیرو (۱۴) روی *Crataegus monogyna* میانگین تعداد ۶/۳ شاخه را با طول ۳/۵ سانتی‌متر در غلظت ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱۲ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) و بیشترین درصد ریشه‌زایی را در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA نتیجه گرفتند. نس و همکاران (۲۶) روی *C. aronia* L. میانگین تعداد ۵/۸ شاخه را در غلظت ۰/۳۳ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌دست آورند. ماهاریک و همکاران (۱۹) روی *C. sinaica* Boiss. تعداد ۷/۶۷ شاخه با طول ۲/۵ سانتی‌متر را در محیط کشت MS (۲۴) شامل ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA) و بیشترین میزان ریشه‌زایی (۹ درصد) را در محیط MS ۱/۲ همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آوردند. دومیریه (۱۰) در بررسی تکثیر *C. azarolus* L. در محیط کشت MS، تعداد ۴ شاخه با طول ۲/۶۹ سانتی‌متر را در غلظت ۱/۱ میلی‌گرم در لیتر BA و IBA و ۴۵ درصد ریشه‌زایی را در ۳ میلی‌گرم در لیتر IBA نتیجه گرفت. مطالعات در خصوص ریشه‌زایی جنس زالزالک مبین ریشه‌زایی مشکل آن است. در غلظت‌هایی از ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، IAA و NAA در محیط کشت QL، آل- ماناسراه (۲) موفق به ریشه‌زایی *C. aronia* نشد. در پژوهش رونالد متیویر (۲۹) روی *Crataegus* spp. با قرار دادن نو ساقه‌ها در محیط کشت MS ۱/۲ شامل ۰، ۰/۱۷۵، ۱/۷۵ و ۱۷/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA بیشترین درصد ریشه‌زایی (۸۶ درصد) و بیشترین میانگین تعداد ریشه (۴/۱۳ عدد) در ۱۷/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA پس از ۶ روز غوطه‌وری به‌دست آمد.

تاکنون در داخل کشور مطالعه‌ای روی تکثیر جنس زالزالک از طریق کشت درون شیشه‌ای انجام نگرفته است. از طرفی گونه *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark. به‌دلیل پراکنش اکولوژیکی محدود در آسیای غربی (ایران، افغانستان و ترکیه) و قفقاز، تجدید حیات طبیعی ضعیف و مشکلات تکثیر نهال، در معرض انقراض است (۱۵). به همین دلیل تکثیر این گونه جزو اولویت طرح‌های تحقیقاتی اداره کل منابع طبیعی استان مرکزی می‌باشد. هدف این پژوهش رسیدن به دستورالعمل مناسب جهت تکثیر این گونه، با بررسی مرحله شاخه‌زایی آن در شرایط کشت درون شیشه‌ای با استفاده از غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد است.



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

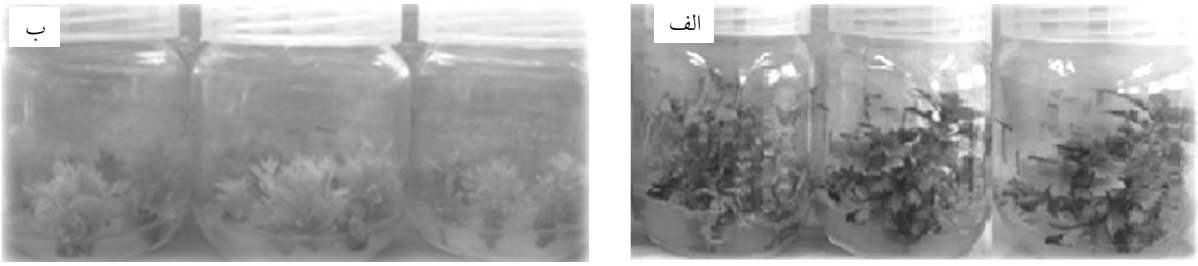
## مواد و روش‌ها

جهت انجام پژوهش حاضر از سر شاخه‌های جوان پایه‌های مادری گونه *Crataegus pseudoheterophylla* با ویژگی‌های یکسان از نظر قطر، ارتفاع و مورفولوژی که فاقد عیب و آثار تنش‌های محیطی بودند و از قسمت فوقانی تاج و رو به نور استفاده گردید. این سرشاخه‌ها در اواخر بهار از منطقه مورد مطالعه در روستای دو خواهران در شهرستان شازند استان مرکزی با عرض جغرافیایی "۵۶ ′۵۱ °۳۳ شمالی و طول جغرافیایی "۱۲ ′۲۴ °۴۹ و متوسط ارتفاع منطقه ۲۲۰۰ متر، متوسط بارندگی ۵۶۸/۵۴ میلی‌متر و اقلیم منطقه نیمه مرطوب سرد و کوهستانی (۱) برداشت و در بسته بندی‌های تمیز و به‌وسیله فلاسک یخ به آزمایشگاه پژوهشکده تحقیقات گل و گیاهان زینتی محلات منتقل شدند. تک گره‌های حاوی جوانه‌های جانبی به اندازه ۱ سانتی‌متری از شاخه‌ها جدا شد. ابتدا تمامی نمونه‌ها با آب و مایع ظرفشویی به‌مدت ۳۰ دقیقه ضد عفونی سطحی و سپس با محلول اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۳۰ ثانیه و سپس دو بار با آب دی یونیزه شستشو شد. آنگاه ریز نمونه‌ها در محلول سفید کننده تجاری هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به‌مدت زمان ۱۵ دقیقه و ۵ قطره توئین ۲۰ (به‌منظور افزایش نفوذ پذیری محلول) و سه بار شستشو با آب دی یونیزه شده در زیر لامینار فلو غوطه‌ورشد. پس از ضد عفونی، نمونه‌ها در آب مقطر سترون حاوی اسید اسکوربیک (۱۰۰ میلی‌گرم بر لیتر) به‌مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. انتهای قهوه‌ای قاعده جوانه‌ها قطع و زوائد جانبی شاخه حذف و سپس کشت در محیط MS حاوی سایتوکینین BAP (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر) صورت گرفت (۲۶). تیمارها ابتدا به‌مدت یک هفته در تاریکی و سپس در روشنایی قرار گرفت. کشت‌ها در شرایط خاص اتاق رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در زیر نور سفید به شدت سه هزار لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. یک ماه بعد از استقرار، نمونه‌هایی که رشد کافی داشتند (حدود ۱/۵ سانتی‌متر) به محیط کشت شاخه‌زایی با غلظت‌های مختلفی از NAA (۰، ۱، ۲، ۳ میلی‌گرم در لیتر)، BAP (۱، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶، ۷ و ۸ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، BAP (۶، ۷ و ۸ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA، KIN (۶، ۷، ۸، ۹ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، 2iP (۲/۵، ۵، ۷/۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، Zt (۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA منتقل شدند. در این مرحله از روش تقسیم شاخه‌ها و محیط کشت MS و ۲ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید استفاده شد. پس از سه بار واکشت به فواصل ۳۰ روز، صفات تعداد شاخه‌ها، تعداد برگ نکروزه شده، ارتفاع گیاهچه و اندازه برگ یادداشت‌برداری شد. آزمایش شاخه‌زایی شامل ۳۰ تیمار و ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۵ ریز نمونه و در مجموع ۹۰ شیشه و ۴۵۰ ریز نمونه برای کل تیمارها بود. جهت ریشه‌زایی واکشت شاخه‌های با طول ۲ – ۱/۵ سانتی‌متری در محیط کشت MS بدون هورمون برای یک ماه انجام شد. سپس زخم‌زنی قسمت انتهایی ساقه به طول ۱ میلی‌متر توسط اسکالپل انجام و در محلول ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA در زمان‌های مختلف شامل ۰، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و ۶۰ دقیقه قرار داده و به محیط کشت VS ۱/۲ (۳۴) بدون هورمون IBA منتقل شدند. گیاهچه‌ها در محیط کشت VS ۱/۲ حاوی ۴۰ میلی‌گرم در لیتر PG (فلوروگلوسینول) با ۱/۵ درصد ساکارز و ۷ گرم در لیتر آگار به‌مدت ۱ هفته در تاریکی در اتاق رشد نگهداری شدند و سپس در معرض فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در زیر نور سفید به شدت ۲ هزار لوکس و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. واکشت شاخه‌ها هر ماه یک‌بار و یادداشت‌برداری پس از ۵ واکشت ماهیانه بر اساس درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، تعداد برگ نکروزه و طول ریشه انجام گرفت. آزمایش ریشه‌زایی شامل ۸ تیمار و ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۳ ریزنمونه و در مجموع ۲۴ شیشه و ۷۲ ریزنمونه برای کل تیمارها بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (17) صورت گرفت. ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]




**شکل ۱. شمایی از گیاهچه‌های تیمار ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA (الف)**
**تیمار ۴ میلی‌گرم در لیتر Zt در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (ب)**

آزمون کولموگروف – اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov) و همگنی واریانس داده‌ها به‌وسیله آزمون لون (Levene) تست گردید. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. برای تعیین اثر تیمارها از تجزیه واریانس یک طرفه استفاده گردید و میانگین‌ها با آزمون دانکن تجزیه و تحلیل شد.

## نتایج

### شاخه‌زایی نوساقه

تمامی مشخصه‌های اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمارهای هورمونی قرار گرفتند و اختلاف معنی‌دار آماری را در تجزیه واریانس نشان دادند (جدول ۱). بیشترین میزان شاخه‌زایی (۳۹/۳۳ عدد شاخه) و کمترین میزان تعداد برگ نکروزه شده (۰/۳۳ عدد برگ) در تیمار ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA، بزرگ‌ترین طول شاخه (۴/۶۷ سانتی‌متر) در تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده می‌شود. بیشترین میزان اندازه برگ (۳/۷۳، ۳/۴۳ و ۳/۴ سانتی‌متر) به‌ترتیب در تیمارهای ۲ میلی‌گرم در لیتر Zt در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA، ۳ میلی‌گرم در لیتر Zt در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر 2iP در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA وجود دارد (جدول ۱). شاخه‌زایی در محیط کشت بدون هورمون و محیط‌هایی که شامل غلظت‌های مختلفی از NAA بود انجام نگرفت. بیشترین تعداد برگ نکروزه شده در محیط کشت بدون هورمون و کمترین طول شاخه در ۷ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۸ میلی‌گرم در لیتر NAA و کمترین طول برگ در ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده می‌شود. ترکیبی از غلظت هورمون‌های BAP و NAA نشان می‌دهد که هر اندازه غلظت BAP کمتر باشد شاخه‌زایی کمتر و تعداد برگ نکروزه بیشتر و هر اندازه نسبت BAP به NAA بیشتر باشد میزان شاخه‌زایی بیشتری انجام گرفته است. به‌طورکلی با افزایش غلظت هورمون اندازه برگ کوچک‌تر شده است. با افزایش غلظت هورمون KIN میزان شاخه‌زایی و طول شاخه، با افزایش غلظت هورمون 2iP میزان شاخه‌زایی و اندازه برگ و با افزایش غلظت هورمون Zt میزان شاخه‌زایی افزایش یافته است (جدول ۱). شمایی از پرآوری گیاهچه‌ها در شکل ۱ آورده شده است.

### ریشه‌زایی نوساقه

نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌دار آماری تمامی مشخصه‌های اندازه‌گیری شده در تیمارهای مدت زمان غوطه‌وری را در هورمون ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA نشان می‌دهد (جدول ۲). بیشترین درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در تیمار ۶ (۴۰ دقیقه غوطه‌وری در هورمون IBA) وجود دارد. بیشترین تعداد برگ نکروزه در تیمار ۲ (۵ دقیقه غوطه‌وری در هورمون IBA) مشاهده می شود (جدول ۲). شمایی از گیاهچه‌های ریشه‌دار شده در تیمار ۶ (۴۰ دقیقه غوطه‌وری در هورمون IBA) آورده شده است (شکل ۲).

## بحث

تکثیر درختان از طریق کشت بافت در آینده می‌تواند با سرعتی



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

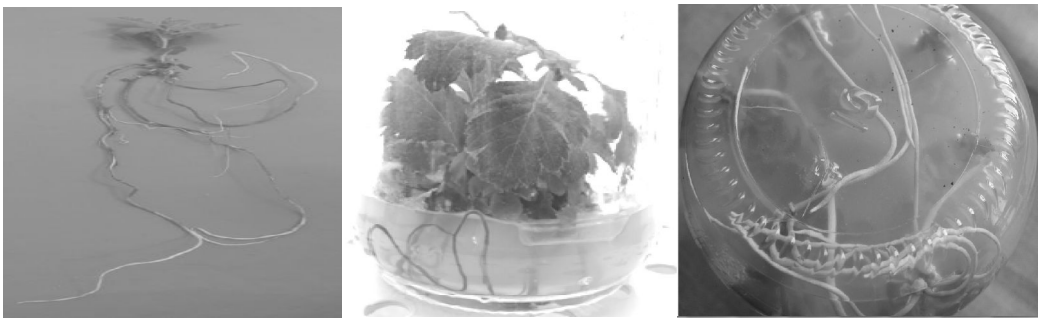
**جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس یک طرفه و مقایسه میانگین صفات اندازه‌گیری شده گونه *C. pseudohetrophylla* تحت تیمار غلظت هورمونی**

| صفات | | شاخه‌زایی (تعداد) | | برگ نکروزه شده (تعداد) | | طول شاخه (سانتی‌متر) | | اندازه طول برگ (سانتی‌متر) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| تیمارها | غلظت هورمونی | میانگین مربعات | F | میانگین مربعات | F | میانگین مربعات | F | میانگین مربعات | F |
| | | ۲۹۹/۸۵ | ۲۰۶/۰۰۴$^{**}$ | ۱۲۱/۲۸ | ۲۴/۰۷۳$^{**}$ | ۱/۸۶۴ | ۲/۹۴$^{**}$ | ۱/۲۲۶ | ۷/۶۵۲$^{**}$ |
| تیمار ۱ (شاهد) | بدون هورمون | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۲۲/۶۷±۲/۰۲$^{a}$ | | ۲/۳±۰/۲$^{d-g}$ | | ۱/۸۳±۰/۲$^{d-h}$ | |
| تیمار ۲ | ۱ mg/l NAA | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۲۲±۲/۵۲$^{a}$ | | ۳/۱۸±۰/۳۳$^{a-g}$ | | ۱/۸۷±۰/۲$^{c-h}$ | |
| تیمار ۳ | ۲ mg/l NAA | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۱۶±۲/۴$^{b}$ | | ۳/۱۳±۰/۱۴$^{a-g}$ | | ۲/۰۳±۰/۰۷$^{c-h}$ | |
| تیمار ۴ | ۳ mg/l NAA | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۱۴±۱/۹$^{bc}$ | | ۳/۲±۰/۰۵$^{a-g}$ | | ۲/۱۳±۰/۲$^{c-g}$ | |
| تیمار ۵ | ۱ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۱۱/۶۷±۱/۷۳$^{cd}$ | | ۱/۹۱±۰/۱۸$^{fg}$ | | ۲/۲±۰/۲۲$^{c-f}$ | |
| تیمار ۶ | ۲ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۰/۶۷±۰/۰۵$^{hi}$ | | ۹±۱/۴۴$^{de}$ | | ۳/۴±۰/۳۴$^{a-f}$ | | ۲/۲۳±۰/۲۲$^{c-f}$ | |
| تیمار ۷ | ۳ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{i}$ | | ۱۴/۶۷±۱/۸$^{bc}$ | | ۳/۴۳±۰/۳۴$^{a-f}$ | | ۱/۸±۰/۲$^{d-h}$ | |
| تیمار ۸ | ۴ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۱/۳۳±۰/۰۸$^{hi}$ | | ۱±۰/۰۷$^{gh}$ | | ۳/۸۷±۰/۴$^{a-d}$ | | ۲/۳۷±۰/۲۲$^{c-e}$ | |
| تیمار ۹ | ۵ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۲±۰/۲$^{hi}$ | | ۱±۰/۰۷$^{gh}$ | | ۳/۷۷±۰/۳۴$^{a-d}$ | | ۲/۶۷±۰/۲۵$^{bc}$ | |
| تیمار ۱۰ | ۶ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۴/۳۳±۰/۳۵$^{fg}$ | | ۰/۶۷±۰/۱$^{gh}$ | | ۴/۱±۰/۳۷$^{a-c}$ | | ۱/۸±۰/۲$^{d-h}$ | |
| تیمار ۱۱ | ۶ mg/l BAP + ۲ mg/l NAA | ۴/۶۷±۰/۳۷$^{fg}$ | | ۱±۰/۰۷$^{gh}$ | | ۴/۲۷±۰/۴۲$^{a-c}$ | | ۱/۸۳±۰/۲$^{d-h}$ | |
| تیمار ۱۲ | ۶ mg/l BAP + ۳ mg/l NAA | ۱/۳۳±۰/۲$^{hi}$ | | ۷±۰/۸۱$^{ef}$ | | ۱/۹۳±۰/۱۲$^{fg}$ | | ۲/۱۳±۰/۱۳$^{c-f}$ | |
| تیمار ۱۳ | ۷ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۳۸/۶۷±۵/۱$^{a}$ | | ۱±۰/۰۵$^{gh}$ | | ۳/۵۷±۰/۳$^{a-e}$ | | ۲/۱±۰/۲$^{c-g}$ | |
| تیمار ۱۴ | ۷ mg/l BAP + ۲ mg/l NAA | ۱۴/۳۳±۲/۴$^{c}$ | | ۱±۰/۰۷$^{gh}$ | | ۴/۶۷±۰/۴$^{a}$ | | ۱/۴۳±۰/۱۸$^{f-h}$ | |
| تیمار ۱۵ | ۷ mg/l BAP + ۳ mg/l NAA | ۴/۶۷±۰/۳۵$^{fg}$ | | ۲/۳۳±۰/۲$^{gh}$ | | ۱/۷±۰/۱$^{g}$ | | ۱/۴۷±۰/۰۸$^{f-h}$ | |
| تیمار ۱۶ | ۸ mg/l BAP + ۱ mg/l NAA | ۱۷±۳/۴$^{b}$ | | ۱±۰/۰۵$^{gh}$ | | ۴/۲±۰/۳۲$^{a-c}$ | | ۱/۲±۰/۱۷$^{h}$ | |
| تیمار ۱۷ | ۸ mg/l BAP + ۲ mg/l NAA | ۳۹/۳۳±۳/۳۵$^{a}$ | | ۰/۳۳±۰/۰۰$^{h}$ | | ۴/۳۷±۰/۴$^{ab}$ | | ۱/۶±۰/۱۹$^{e-h}$ | |
| تیمار ۱۸ | ۸ mg/l BAP + ۳ mg/l NAA | ۹/۶۷±۲/۱$^{de}$ | | ۲/۶±۰/۰۸$^{gh}$ | | ۲/۰۷±۰/۱$^{e-g}$ | | ۱/۳±۰/۰۷$^{gh}$ | |
| تیمار ۱۹ | ۶ mg/l KIN + ۱ mg/l NAA | ۰/۳۳±۰/۰۰$^{hi}$ | | ۴/۳۳±۰/۳۵$^{f-h}$ | | ۲/۷±۰/۰۷$^{c-g}$ | | ۲/۶±۰/۲۵$^{cd}$ | |
| تیمار ۲۰ | ۷ mg/l KIN + ۱ mg/l NAA | ۱±۰/۰۵$^{hi}$ | | ۲/۶۷±۰/۰۸$^{gh}$ | | ۳/۳±۰/۲$^{a-g}$ | | ۲/۶۷±۰/۲۵$^{bc}$ | |
| تیمار ۲۱ | ۸ mg/l KIN + ۱ mg/l NAA | ۱/۳۳±۰/۰۷$^{hi}$ | | ۲/۳۳±۰/۰۹$^{gh}$ | | ۳/۰۳±۰/۲$^{a-g}$ | | ۱/۸±۰/۱۹$^{d-h}$ | |
| تیمار ۲۲ | ۹ mg/l KIN + ۱ mg/l NAA | ۱/۳۳±۰/۰۷$^{hi}$ | | ۳/۳۳±۰/۳$^{f-h}$ | | ۳/۱۳±۰/۱۸$^{a-g}$ | | ۱/۹۳±۰/۲$^{c-h}$ | |
| تیمار ۲۳ | ۱۰ mg/l KIN + ۱ mg/l NAA | ۲/۳۳±۰/۲$^{g-i}$ | | ۲±۰/۰۸$^{gh}$ | | ۴/۱۷±۰/۳۵$^{a-c}$ | | ۲/۰۳±۰/۲$^{c-g}$ | |
| تیمار ۲۴ | ۲/۵ mg/l 2iP + ۱ mg/l NAA | ۱±۰/۰۰$^{hi}$ | | ۵±۰/۲۵$^{fg}$ | | ۲/۷۳±۰/۱$^{b-g}$ | | ۲/۰۷±۰/۲$^{c-g}$ | |
| تیمار ۲۵ | ۵ mg/l 2iP + ۱ mg/l NAA | ۲/۳۳±۰/۰۶$^{g-i}$ | | ۳/۳۳±۰/۲۱$^{f-h}$ | | ۳/۶۳±۰/۳$^{a-e}$ | | ۲/۳۳±۰/۰/۲۵$^{c-e}$ | |
| تیمار ۲۶ | ۷/۵ mg/l 2iP + ۱ mg/l NAA | ۲/۶۷±۰/۱۲$^{gh}$ | | ۲±۰/۱$^{gh}$ | | ۳/۲۷±۰/۲۱$^{a-g}$ | | ۲/۶۷±۰/۲۷$^{bc}$ | |
| تیمار ۲۷ | ۱۰ mg/l 2iP + ۱ mg/l NAA | ۴/۳۳±۰/۳$^{fg}$ | | ۲/۶۷±۰/۳$^{gh}$ | | ۳/۴۷±۰/۲۸$^{a-f}$ | | ۳/۴±۰/۳$^{a}$ | |
| تیمار ۲۸ | ۲ mg/l Zt + ۱ mg/l NAA | ۵/۳۳±۰/۵۶$^{f}$ | | ۲/۶۷±۰/۱۳$^{gh}$ | | ۴/۰۷±۰/۵$^{a-c}$ | | ۳/۷۳±۰/۳۳$^{a}$ | |
| تیمار ۲۹ | ۳ mg/l Zt + ۱ mg/l NAA | ۸/۶۷±۱$^{e}$ | | ۲±۰/۱$^{gh}$ | | ۳/۶۳±۰/۴$^{a-e}$ | | ۳/۴۳±۰/۳۳$^{a}$ | |
| تیمار ۳۰ | ۴ mg/l Zt + ۱ mg/l NAA | ۱۱/۶۷±۱/۸$^{d}$ | | ۱/۶۷±۰/۱$^{gh}$ | | ۴/۲±۰/۵$^{a-c}$ | | ۳/۳۷±۰/۳۳$^{ab}$ | |

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱، اعداد پس از± اشتباه معیار هستند. حروف مختلف در ستون مبین معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد است.



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]



**شکل ۲. شمایی از گیاهچه‌های *C. pseudoheterophylla* در تیمار ۶ (چهل دقیقه غوطه‌وری در هورمون IBA)**

متناسب با سرعت تخریب برای کشت و تجدید حیات دوباره جنگل‌ها مورد استفاده قرار گیرد. آنچه موجب برتری این روش نسبت به سایر روش‌ها می‌گردد، سرعت تکثیر و امکان کاربرد آن در مورد گیاهان بالغ مسن است. جوانه بالقوه توانایی تکثیر و تولید اندام‌های جدید را دارد و به همین دلیل از ثبات ژنتیکی کافی برخوردار بوده و کمترین مقدار تغییرات ژنتیکی در تکثیر به این روش دیده می‌شود (۷).

**شاخه‌زایی نوساقه**

مرحله شاخه‌زایی نوساقه در پژوهش حاضر تحت تأثیر غلظت و نوع تنظیم کننده‌های رشد بود. در پژوهش حاضر پس از ۳ زیر کشت، مقادیر بالای BAP (۸ میلی‌گرم در لیتر) و NAA (۲ میلی‌گرم در لیتر) سبب شاخه‌زایی به تعداد ۳۹/۳۳ عدد در گونه *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark. گردید. ماهاریک و همکاران (۱۹) نیز با استفاده از ترکیب ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA موفق به میزان بالایی از شاخه‌زایی (۲۲ عدد) بدون تشکیل کالوس در گونه *C. sinaica* شدند. گوکبونار (۱۲) نیز پس از کشت *Crataegus* sp. در محیط شامل ۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA نتیجه گرفت که تعداد شاخه‌ها در محیط کشت حاوی سطوح بالای BAP نسبت به سطوح کم آن به‌طور معنی‌داری بیشتر است. تشکیل شاخه نشان دهنده تشکیل پریموردیوم‌های جدید شاخه تحت تأثیر هورمون‌های محیط کشت است. در حضور BAP شاخه‌زایی در پای شاخساره‌ها انجام می‌شود ولی این شاخساره‌های جانبی از نوع محوری بوده و به‌ندرت از شاخساره‌های نابجا هستند (۲۳). نقش و اثر BAP در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید است، بنابراین با افزایش غلظت BAP در محیط، شاخه‌زایی بیشتری تولید می‌شود (۱۴) که دلیلی بر نتایج پژوهش حاضر است. در پژوهش حاضر در محیط کشت MS، ترکیب BAP به همراه NAA، سطح متعادل هورمونی را برای تکثیر سریع شاخه زالزالک در کشت ایجاد کرد. علت این رخداد، می‌تواند ترکیبات فلاوونوئیدی در محیط کشت حاوی BAP باشد. زیرا این هورمون فعالیت آنزیم‌های پرکسیداز را که موجب تجزیه ترکیبات فلاوونوئیدی می‌شود، تشدید می‌کند (۹) و از طرفی با افزایش تولید سایتوکینین داخلی، در افزایش شاخه‌زایی مؤثر است (۶).

نسبت مناسب ترکیب هورمونی اکسین و سایتوکینین در محیط کشت برای رسیدن به گیاه کامل مؤثر می‌باشد، به‌طوری‌که سبب القاء تقسیم سلولی و تمایز سلولی و موجب اندام‌زایی می‌گردد. هم‌چنین افزایش غلظت هورمون NAA تا مقدار معینی سبب حذف ترکیبات فنولی می‌شود و این اثر ممکن است به‌دلیل اکسیداسیون ترکیبات فنولی توسط آنزیم اکسین اکسیداز باشد که فعال کننده این آنزیم، غلظت‌های بالای NAA می‌باشد (۵) در پژوهش حاضر از هورمون‌های KIN، 2iP و Zt نیز با غلظت‌های متفاوت استفاده گردید ولیکن شاخه‌زایی در آنها همانند BAP مطلوب نبود. در پژوهش حاضر، با افزایش غلظت هورمون‌های KIN، 2iP و Zt میزان شاخه‌زایی روند صعودی داشته است. در همین راستا، پاتی و همکاران (۲۸) در ارقام مختلف رز تیمار شده با هورمون‌های



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

**جدول ۲. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین صفات در محیط کشت VS ۱/۲ و غلظت ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA در مدت زمان‌های مختلف**

| تیمارها | ۱ | ۲ | ۳ | ۴ | ۵ | ۶ | ۷ | ۸ | F |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| درصد ریشه زایی | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{f}$ | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{f}$ | ۴/۳۳±۰/۵$^{de}$ | ۱۰/۶۷±۰/۶۶$^{c}$ | ۲۰/۶۷±۳/۴۸$^{b}$ | ۳۳/۳۳±۴/۲$^{a}$ | ۲۱/۶۷±۱/۲$^{b}$ | ۸/۳۳±۰/۸۸$^{cd}$ | ۵۱/۹۳۲$^{**}$ |
| تعداد ریشه | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{e}$ | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{e}$ | ۰/۶۶±۰/۰۳$^{de}$ | ۱±۰/۰۵$^{cd}$ | ۲/۳۳±۰/۳۳$^{b}$ | ۴±۰/۸$^{a}$ | ۱/۶۷±۰/۳۳$^{bc}$ | ۱±۰/۰۶$^{cd}$ | ۲۱/۳۳$^{**}$ |
| تعداد برگ نکروزه | ۲/۶۷±۰/۳۳$^{b}$ | ۴/۳۳±۰/۸۸$^{a}$ | ۱/۶۷±۰/۱۸$^{bc}$ | ۲/۳۳±۰/۳۳$^{bc}$ | ۱/۳۳±۰/۳۳$^{bc}$ | ۰/۶۷±۰/۰۸$^{c}$ | ۱±۰/۲$^{bc}$ | ۲/۳۳±۰/۳۳$^{bc}$ | ۴/۴۰۹$^{**}$ |
| طول ریشه (سانتی‌متر) | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{d}$ | ۰/۰۰±۰/۰۰$^{d}$ | ۰/۸±۰/۰۲$^{cd}$ | ۲/۸±۰/۶۵$^{b}$ | ۴/۵۷±۰/۳۲$^{a}$ | ۴/۹۷±۰/۴۱$^{a}$ | ۳/۹۳±۰/۲۲$^{a}$ | ۱/۵±۰/۲۳$^{c}$ | ۲۹/۳۱$^{**}$ |

**. معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱، اعداد پس از± اشتباه معیار هستند. حروف مختلف در ستون مبین معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۰/۰۵ درصد است.

تیمار ۱: بدون هورمون، تیمار ۲: پنج دقیقه، تیمار ۳: ده دقیقه، تیمار ۴: بیست دقیقه، تیمار ۵: سی دقیقه، تیمار ۶: چهل دقیقه، تیمار ۷: پنجاه دقیقه و تیمار ۸: شصت دقیقه

مرحله شاخه‌زایی، (هر کدام در سطوح ۰/۳، ۰/۶، ۰/۹ و ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر) گزارش کردند که BAP در سطح ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر تنظیم کننده رشد مؤثرتری در تحریک شاخه‌زایی ساقه می‌باشد و اثر بیشتری نسبت به هورمون‌های 2iP، TDZ، KIN و meta-topolin (mT) دارد. هم‌چنین در بررسی اثر چهار نوع سایتوکینین BAP، KIN، 2iP و TDZ در ریز ازدیادی گیلاس وحشی (*Prunus avium* L.)، رقم *Lapins* بهترین نوع سایتوکینین برای فاز تکثیر و شاخه‌زایی BAP بود (۳۰). تأثیر سایتوکینین KIN در تولید شاخساره‌های قوی و برگ‌های توسعه یافته، با شاخه‌زایی کم همراه بوده است. Zt منجر به قوی‌تر شدن ساقه و توسعه اندازه برگ در گیاه شده، درحالی‌که 2iP باعث توسعه اندازه برگ در غلظت بالا گردید (۳۰). بر اساس نتایج مپس و زایر (۲۰)، BAP از دیگر سایتوکینین‌ها از جمله KIN، 2iP و Zt فعال‌تر است، لذا استفاده از آن برای ریز ازدیادی تجارتی که سهولت و ارزش اقتصادی اهمیت دارد مقرون به صرفه‌تر است.

در پژوهش حاضر در محیط‌های حاوی NAA اما فاقد BAP هیچ شاخساره‌ای تشکیل نشد. لیبلای و همکاران (۱۸) در *Pyrus commonis* L. و میگویل و همکاران (۲۱) در *Prunus dulcis* M. و گوکبونار (۱۲) نیز در *Crataegus* sp. مشاهده کردند که هیچ مورد شاخه‌زایی در محیط کشت حاوی NAA و بدون سایتوکینین صورت نگرفت بنابراین سایتوکینین برای تشکیل شاخساره لازم است. استفاده از BAP و NAA به‌ترتیب منجر به افزایش تعداد جوانه‌های جانبی و طول جوانه‌های جانبی می‌شود. پس از واکشت نمونه‌ها و انتقال به محیط جدید بیشترین تعداد برگ‌های نکروزه شده در محیط کشت بدون هورمون و بدون سایتوکینین مشاهده گردید. سایتوکینین‌ها علاوه بر آنکه سرعت تقسیم را تنظیم می‌کنند، رشد جوانه‌های جانبی را نیز تحریک می‌نمایند (۳). همانند یافته‌های لاپیچینو و آیرو (۱۴) در پژوهش حاضر نیز در محیط بدون هورمون تا زمانی که ذخایر مواد کربوهیدراتی و هورمون درون‌زا در ریز نمونه‌ها وجود داشته باشند، برگ‌ها سالم و سپس به‌دلیل فقدان



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

مواد تنظیم کننده رشد و عدم تقسیم سلولی و فعالیت آنزیم‌های رشد، برگ‌ها نکروزه شده و گیاهچه‌ها از بین می‌روند.

در آزمایش حاضر بلندترین میانگین طول شاخساره (۴/۶۷ سانتی‌متر) در تیمار ۷ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد و با افزودن BAP به محیط کشت تا غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر طول شاخساره‌ها به‌میزان جزئی کاهش نشان داد. احتمال دارد که کاهش طول شاخساره‌ها به‌دلیل تأثیر BAP بر افزایش تعداد جوانه‌های نابه‌جا روی ریز نمونه و افزایش رقابت بین جوانه‌ها باشد (۱۷). درحالی‌که در محیط کشت‌های با غلظت کم از BAP شاخساره‌ها به‌صورت تکی و یا با تعداد کمی شاخساره جانبی شروع به رشد نمودند و رقابت کمتری بین شاخساره‌ها مشاهده گردید. افزایش غلظت NAA در محیط کشت‌های بدون سایتوکینین، متوسط رشد طولی شاخساره‌ها را افزایش داد. هم‌چنین با افزایش غلظت هورمون KIN میزان طول شاخه روند صعودی داشت. بارالدی (۴) در بررسی اثر BAP روی *Prunus irsitta* نتیجه گرفت که BAP رشد طولی شاخه‌ها را کاهش می‌دهد که با نتایج پژوهش حاضر مغایرت دارد که افزایش تعداد شاخه‌زایی روی میزان رشد طولی ساقه تأثیری نداشت. هرچند هر دو جنس *Prunus* و *Crataegus* از خانواده رزاسه هستند و این تفاوت می‌تواند به فیزیولوژی و مکانیسم جذب گیاه مربوط باشد. تفاوت گونه‌ها در پاسخ به عناصر غذایی و غلظت تنظیم کننده‌های رشد در محیط کشت سبب ایجاد شرایط متفاوت برای تقسیم سلولی و توسعه آن می‌شود (۲۸).

در پژوهش حاضر بیشترین طول برگ در تیمار ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر Zt و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر 2iP و کمترین آن در بالاترین غلظت هورمونی BAP مشاهده گردید. خدایی چگنی و همکاران (۱۷) در تکثیر درون شیشه‌ای *Pyrus communis* نیز نشان دادند که طول برگ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP نسبت به همان غلظت در BAP بیشتر است. در غلظت‌های بالای BAP برگ‌ها فرصت رشد و تکامل پیدا نکردند زیرا مواد غذایی جذب شده صرف تولید شاخه‌ها شده و تکافوی توسعه سطح برگ‌ها را نداشتند، اما در محیط کشت بدون هورمون که میزان پرآوری شاخه کم بود، برگ‌ها رشد خوبی داشتند.

**ریشه‌زایی نوساقه**

در پژوهش حاضر قبل از تیمار ریشه‌زایی، گیاهچه‌ها به‌مدت یک ماه در محیط کشت بدون هورمون کشت شدند. اعمال تیمار قبل از کشت به‌دلیل استفاده از سایتوکینین‌ها در غلظت‌های زیاد می‌باشد (۲۶). بیشترین درصد ریشه‌زایی و تعداد ریشه در پژوهش حاضر در محیط کشت VS ۱/۲ همراه با زخم‌زنی انتهای پایه ساقه و ۴۰ دقیقه غوطه‌وری در IBA با یک هفته قرار گرفتن در تاریکی به‌دست آمد. در محیط کشت VS به جای آهن معدنی (FeEDTA) از آهن آلی (FeEDDHA) که فرم پایدارتری نسبت به سایر فرم‌های آهن دارد، به‌عنوان منبع آهن استفاده شده است. اثر آهن آلی بر تکثیر، جلوگیری از زرد شدن، نکروزه شدن، درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه *Prunus amygdalus* × *Prunus persica* به‌دلیل تأثیر بر فعالیت پراکسیداز و الگوی ایزوآنزیمی گزارش شده است (۲۲). در پژوهش حاضر در محیط کشت VS ۱/۲ غلظت مواد به ۱/۲ کاهش یافته است که در شرایط کاهش پتانسیل اسمزی، جذب املاح و مواد معدنی توسط گیاه، مستلزم ایجاد ریشه و تارهای کشنده است و همین امر بر موفقیت ریشه‌زایی تأثیر می‌گذارد. زخم‌زنی انتهای پایه ساقه در پژوهش حاضر انجام گردید. زخم کردن قسمت تحتانی گیاهچه منجر به افزایش تقسیم سلولی در پارانشیم‌های کناره لایه زاینده، افزایش اکسین، کربوهیدرات، تنفس سلولی، تجمع مواد فنلی و تحریک تولید اتیلن می‌شود. زخم‌زنی هم‌چنین می‌تواند سبب تنش، تغییرات در روابط آبی گیاه، افزایش اسید آبسزیک و آنزیم پراکسیداز شود که بر القاء ریشه‌زایی و توسعه ریشه‌ها تأثیر می‌گذارد.

در پژوهش حاضر مرحله جداگانه انگیزش ریشه در حضور اکسین با غلظت زیاد برای مدت زمان کوتاه و سپس انتقال شاخساره‌ها به محیط کشت بدون هورمون برای توسعه ریشه انجام گرفت. میانگین ۳۰ درصد ریشه‌زایی و تعداد ۴ ریشه در



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

غوطه‌وری گیاهچه در ۳۰ دقیقه محلول ۱۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA به‌دست آمد (۲۵). مدت زمان کوتاه در غلظت زیادی از IBA ممکن است ژن‌های مسئول برای تولید پروتئین‌های مورد نیاز برای تشکیل ریشه جانبی را فعال نماید درصورتی‌که حضور طولانی مدت اکسین در محیط به‌دلیل رقابت در اتصال روی محل‌های گیرنده، بازدارنده رشد هستند (۳۱). در بررسی حاضر احتمالاً مدت زمان ۵ دقیقه غوطه‌وری در IBA کافی نبوده است و بیشترین تعداد برگ نکروزه شده نیز در تیمار کم اکسین مشاهده شده است و کاهش عناصر تغذیه‌ای در محیط کشت و عدم توانایی گیاه در ایجاد ریشه سبب نکروزه شدن برگ شده است. در تیمار مدت زمان بیشتر از ۴۰ دقیقه غوطه‌وری در IBA، به‌دلیل مدت زمان زیاد تیمار اکسین، تأثیر منفی روی ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه گذاشته است. اکسین از طریق القاء و تحریک تقسیم سلولی و تمایز ریشه‌ها سبب ریشه‌زایی می‌گردد ولیکن مدت زمان تیمار می‌تواند میزان ریشه‌زایی و طول آن را تحت تأثیر قرار دهد.

کشت در شیشه به‌طور قابل توجهی تحت تأثیر فاکتورهای مختلف ژنوتیپی، سن، اندازه، گیاه مادری، جدا کشت، شرایط رشد، ترکیب محیط و دیگر فاکتورهای فیزیولوژیکی و یا حتی کیفیت متفاوت مواد مورد استفاده می‌باشد. تحقیق حاضر با دست‌یابی به شیوه استقرار و میزان بالای شاخه‌زایی (تا ۴۰ شاخه بر ریز نمونه در ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP در ترکیب با ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) گونه *Crataegus pseudohetrophylla* Pojark.، امکان انجام سایر طرح‌های تحقیقاتی برای تجاری سازی این شیوه را فراهم می‌نماید. به‌منظور تکثیر تجاری و به‌دست آوردن دستورالعمل ریشه‌زایی گونه گیاهی مورد اسفاده در پژوهش حاضر، ضروری است تیمارهایی با غلظت‌های مختلف اکسین و محیط‌های کشت در مطالعات بعدی سایر پژوهشگران انجام گیرد.

## منابع مورد استفاده


1. Aghakhani, S. and A. Metaji. 2010. The study of ecological and seriate structure of Markazi province jungles (case study: Shazand city oak jungles). *Journal of Plant Ecophysiology (Arsanjan Branch of Islamic-Azad University)* 1(3): 54-62. (In Farsi)
2. Al- Manasrah, W. S. 2012. *In vitro* propagation of *Crataegus aronia* L. and secondary metabolites detection. MSc. Thesis, Palestine Polytechnic University, Hebron, Palestine.
3. Bagheri, A., M. Ziaratnia and M. Hosseini. 2005. *In Vitro* Culture of Trees. Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad. (In Farsi)
4. Baraldi, R. 1988. *In vitro* shoot development of Prunus GF-655-2: Interaction between light and benzyladenine. *Physiologia Plantarum* 74: 440-443.
5. Bassi, G. and F. Cossio. 1991. *In vitro* shoot regeneration on 'Bluefre' and 'Susina di Dro' prune cultivars (*Prunus domestica* L.). *Acta Horticulturae* 289: 81–82.
6. Bennett, I. J., J. A. McComb, C. M. Tonkin and D. A. J. Mcdavid. 1994. Alternating cytokinins in multiplication media stimulates *in vitro* shoot growth and rooting of *Globulus labill*. *Annals of Botany* 74: 8-53.
7. Bonga, J. M. and P. V. Aderkas. 1992. *In Vitro* Culture of Trees. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
8. Bujarska-Borkowska, B. 2002. Breaking of seed dormancy, germination and seedling emergence of the common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq.). *Dendrobiology* 47: 61–70.
9. Curir, P., V. Sumerect and A. Termini. 1990. Flavonoid accumulation is correlated with adventitious root formation in *Eucalyptus gunnii* Hook micropropagated through axillary bud stimulation. *Plant Physiology* 92: 1148-1153.
10. Dumireih, J. 2009. *In vitro* propagation and molecular characterization of hawthorn species (*Crataegus azarolus* L.) in rural Damascus. MSc. Thesis, Tishreen University, Damascus, Syria.
11. Emam, M., A. Ghamarizare, K. Espahbodi, T. S. Naraghi and S. H. Shahrzad. 2012. Micropropagation of forest tree of Sorbus aucuparia.L by bud culture of mature plants. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research* 19 (2): 263-273. (In Farsi)
12. Gökbunar, L. 2007. *In vitro* micropropagation of howthorn (*Crataegus* sp.), MSc. Thesis, Kahramanmaras Sutcu Imam University. Kahramanmaras, Turkey.
13. Gosling, P. 2007. Practice Guide Raising Trees and Shrubs from Seed. Forestry Commission: Edinburgh. Norwich,




[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]

England.
14. Iapichino, G. and M. Airò. 2009. Multiplication of *Crataegus monogyna* by *in vitro* culture of nodal segments, ISHS Acta Horticulturae 812. *In:* Proceeding of III International Symposium on Acclimatization and Establishment of Micropropagated Plants. Bávaro, Punta Cana (Dominican Republic), pp. 135-140.
15. Jalili, A. and Z. Jamzad. 1999. Red Data Book of Iran: A Ppreliminary of Endemic, Rare and Endangered Plant Species in Iran. Research Institute of Forest and Range Land, Tehran.
16. Khatamsaz, M. 1992. Flora of Iran: Rosaceae. Research Institute of Forests and Rangelands. Tehran, Iran.
17. Khodaee Chegini, F., H. Abdollahi, A. Ershadi and M. Asna Ashari. 2012. Determination of micro-propagation protocol for OH × F333 and OH × F69 pear clonal rootstocks. *Seed and Plant production Journal* 2-27(3): 297-312. (In Farsi).
18. Leblay, C., E. Chevreau and L. M. Raboin. 1990. Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Plant Cell Tissue and Organ Culture* 25: 99–105.
19. Maharik, N., S. Elgengaihi and H. Taha. 2009. *In vitro* mass propagation of the endangered sinai howthorn *Crataegus sinaica* Boiss. *International Journal of Academic Research* 1 (1): 24-29.
20. Mapes, Mo. and J. B. Zaerr. 1982. Multiplication *in vitro* du Douglas. Par induction precoe precoe dun bourgeonnement adventif et exillaire in: colloque international sur la culture *in vitro* desessen cess foresti eves, iufro section. AFOCEL Fontainebleau Publication. France. pp. 109-114.
21. Miguel, C. M., P. Druart and M. M. Oliveira. 1996. Shoot regeneration from adventitious buds induced on juvenile and adult almond (*Prunus dulcis* Mill.) explants. *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 32: 148–153.
22. Molassiotis, A. N., K. Dimassi, I. Therios and G. Diamantidis. 2003. Fe-EDDHA promotes rooting of rootstock GF–677 (*Prunus amygdalus* × *P. persica*) explants *in vitro*. *Biologia Plantarum* 47: 141–144.
23. Muna, A., A. Ahmad, K. Mahmoud and K. Abdul-Rahman. 1999. *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 59: 203–208.
24. Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum* 15: 473 –597.
25. Namli, S., Ç. Isikalan, F. Akbas and B. BaŞaran. 2011. Improved *in vitro* rooting of almond *Amygdalus communis* (cultivar "nonparell"). *Journal of Plant Molecular Biology & Omics* 4(1):14-18.
26. Nas, M. N., L. Gokbunar, N. Sevgin, M. Aydemir, M. Dagli and Z. Susluoglu. 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., A medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. *The Journal of Plant Growth Regulation* 67 (1): 57-63.
27. Ning, G. G., S. P. Bai, M. Z. Bao and L. Liu. 2007. Factors affecting plantlet regeneration from *in vitro* cultured immature embryos and cotyledons of *Prunus mume* "Xue mei". *In Vitro Cellular and Developmental Biology Plant* 43: 95–100.
28. Pati, P. K., M. S. Rath, A. Sood and P. S. Ahuja. 2005. *In vitro* propagation of rose—a review. *Biotechnology Advances* 95-111.
29. Ronald Metivier, P. S. 2000. *In Vitro* Studies of Adventitious Root Formation in Four Woody Species, Calgary University, Alberta.
30. Ruzic, Dj, V. and T. I. Vujovic. 2008. The effects of cytokinin types and their concentration on *in vitro* multiplication of sweet cherry cv. Lapins (*Prunus avium* L.). *HortScience* 3: 12–21.
31. Zarei, M., Gh. Garoosi, E. Nezami, R. Hosseini and J. Ahmadi. 2013. The effect of medium, carbon source, light spectrum and style treatment of auxin on shoot and root regeneration of gisela 6 root stock. *Journal of Cell and Tissue* 4(2): 169-185. (In Farsi).



[ Downloaded from jcpp.iut.ac.ir on 2024-10-15 ]
[ DOR: 20.1001.1.22518517.1394.5.17.7.0 ]
[ DOI: 10.18869/acadpub.jcpp.5.17.85 ]