مجله به‌زراعی نهال و بذر
جلد ۲-۲۵ ، شماره ۴، سال ۱۳۸۸

«مقاله کوتاه علمی»

# استقرار و پرآوری در کشت درون شیشه‌ای دو پایه هیبرید آلو × زردآلو

# Establishment and Proliferation of Two Apricot × Plum Hybrid Rootstocks for *In Vitro* Culture

الهام وقاری‌آذر[۱]، اسلام مجیدی‌هروان[۲]، علی وطن‌پورازغندی[۳] و جلیل دژم‌پور[۴]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی
۲- استاد، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
۳- استادیار، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران
۴- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان شرقی

**تاریخ دریافت:** ۱۳۸۸/۳/۱۰ **تاریخ پذیرش:** ۱۳۸۸/۱۲/۶

**وقاری‌آذر، ا.، مجیدی‌هروان، ا.، وطن‌پورازغندی، ع. و دژم‌پور، ج. ۱۳۸۸.** استقرار و پرآوری در کشت درون شیشه‌ای دو پایه هیبرید آلو × زردآلو. **مجله به‌زراعی نهال و بذر** ۲-۲۵ (۴): ۳۵۲-۴۶۵.

تحقیق حاضر با هدف بررسی اثر غلظت BAP، محیط پایه و زمان نمونه‌گیری بر استقرار درون‌شیشه‌ای و شاخه‌زایی دو پایه هیبرید بین گونه‌ای از جنس پرونوس با نام‌های HS405 و HS706 که دورگه‌های آلو × زردآلو (*Prunus armenica* × *Prunus domestica*) هستند و در مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی آذربایجان شرقی تولید و بر اساس صفاتی نظیر مقاومت نسبی به آفات و امراض، تحمل به تنش‌های محیطی، عدم پاجوش‌دهی، قدرت رشد درخت، فرم ریشه و استقرار در خاک انتخاب شده و در ایستگاه تحقیقات باغبانی سهند تبریز کشت شده‌اند، برای اولین بار انجام گرفته است، تا در تهیه پروتکل تولید انبوه این دو ژنوتیپ استفاده گردد. با توجه به اینکه دورگ‌های مورد بررسی حاصل تلاقی‌های بین گونه‌ای هستند تکثیر آنها از طریق بذر ممکن نیست و به دلیل اختلالات فیزیولوژیکی ریشه‌زایی آنها از طریق قلمه‌زنی مشکل است

آدرس پست الکترونیکی نگارنده مسئول: eli_vaghari@yahoo.com

(Dejampour *et al.*, 2007). بنابراین استفاده از کشت درون شیشه‌ای می‌تواند روش مناسبی برای تکثیر این پایه‌ها باشد. در سال‌های اخیر استفاده از این روش در ازدیاد دورگه‌های زیادی مورد استفاده قرار گرفته و از جمله (Martinelli, 2005) با استفاده از روش کشت بافت، تکثیر هیبریدهای هلو × بادام را مورد بررسی قرار داده است.

برای ضدعفونی سطحی ریزنمونه‌ها که به صورت ریزقلمه‌های تک جوانه و چند جوانه ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متری بودند، از اتانل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه و هیپوکلرید سدیم ۲/۵٪ به مدت ۷ و ۱۰ دقیقه به ترتیب برای جوانه‌های انتهایی و جانبی و به دنبال آن ۳ بار آبشویی با آب مقطر استریل استفاده شده است.

در مرحله استقرار از دو محیط MS و WPM با غلظت بنزیل آمینو پورین صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر همراه با ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید استفاده شده است. نمونه‌گیری در سه فصل اواسط بهار، اوایل تابستان و اوایل پاییز انجام شده است و شاخص‌های مقدار آلودگی سطحی و داخلی، درصد جوانه فعال شده، درصد نکروز انتهایی و شاخص کیفیت مربوط به سبزی و طراوت جوانه‌ها ثبت شده است. در مرحله شاخه‌زایی اثر غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید در محیط WPM بررسی شده است و تعداد شاخه‌های تشکیل شده در هر ریزنمونه، تعداد برگ‌ها، اندازه بزرگترین برگ، میانگین طول شاخه و شاخص کیفیت مربوط به سبزی و طراوت برگ‌ها، شاخص مقدار کلروز و درصد نکروز ثبت شده‌اند. همه محیط‌های کشت حاوی ۰/۷٪ آگار و ۳٪ ساکارز بوده است و pH محیط قبل از اتوکلاو کردن به ۵/۷ تا ۵/۸ تنظیم شده است. کشت‌ها در شدت نور ۳۰۰۰ لوکس به مدت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. واکشت نمونه‌ها هر ۴ هفته یکبار انجام شده است. آزمایش‌ها بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و ۴ ریزنمونه در هر تکرار انجام شده است. اطلاعات آماری با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS تجزیه و میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال ۵٪ مقایسه شده‌اند.

در مرحله استقرار، در درصد جوانه‌های فعال شده و کیفیت جوانه‌ها، بین زمان‌های نمونه‌برداری، ژنوتیپ‌ها، محیط‌های استقرار و غلظت‌های BAP تفاوت معنی‌داری وجود داشته است (جدول ۱). بهترین زمان نمونه‌برداری با ۸۱٪ جوانه فعال شده، فصل بهار بوده است که با نتایج (Dejampour, 2007) مشابه بوده است. کمترین مقدار آلودگی داخلی و درصد نکروز انتهایی در نمونه‌های اوایل تابستان دیده شده که در میزان آلودگی داخلی با نمونه‌های پاییزی تفاوت معنی‌داری نداشته است (جدول ۱). ژنوتیپ HS405 استقرار موفق‌تری نسبت به ژنوتیپ HS706 داشته است،

جدول۱- اثر زمان نمونه‌برداری، ژنوتیپ، محیط کشت و غلظت‌های مختلف BAP بر استقرار پایه‌های هیبرید آلو × زردآلو

Table 1. Effect of sampling dates, genotypes, culture media and BAP concentrations on establishment of apricot × plum hybrid rootstocks

| | | آلودگی سطحی Surface infection | آلودگی داخلی Internal infection | درصد جوانه فعال شده %Active buds | شاخص کیفیت Quality index | درصد نکروز شاخه % Shoot necrosis |
|---|---|---|---|---|---|---|
| زمان نمونه‌برداری Sampling date | Spring بهار | 0.027a | 0.250a | 81.30a | 2.355a | 18.69a |
| | Summer تابستان | 0.008a | 0.125b | 61.53b | 2.153a | 0.00b |
| | Autumn پائیز | 0.50a | 0.217ab | 47.57c | 1.708b | 14.56a |
| ژنوتیپ Genotype | HS405 | 0.10b | 0.175a | 74.23a | 2.245a | 7.36b |
| | HS706 | 0.049a | 0.227a | 52.31b | 1.894b | 15.23a |
| محیط کشت Culture medium | MS | 0.033a | 0.179a | 54.7b | 1.864b | 10.00a |
| | WPM | 0.026a | 0.226a | 74.30a | 2.326a | 12.50a |
| غلظت BAP BAP Concentration mg/l | 0 | 0.049a | 0.221a | 69.23a | 2.142a | 15.38a |
| | 1 | 0.028a | 0.200a | 57.27b | 1.927b | 8.18a |
| | 2 | 0.014a | 0.185a | 65.48b | 2.168a | 10.61a |

میانگین‌هایی، در هر ستون، که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

شاخص کیفیت: ۱= ضعف، ۲= متوسط، ۳= خوب و ۴= عالی

Quality index: 1= Weak, 2= Medium, 3= Good and 4= Excellent

که به تفاوت در واکنش ژنوتیپ‌ها به شرایط محیط مرتبط بوده است. بهترین محیط استقرار با بیشترین درصد جوانه فعال شده و شاخص کیفیت جوانه‌ها محیط WPM بوده است. (Perez-Tornero *et al.*, 2000) نتایج مشابهی را در زردآلو گزارش کرده‌اند. به نظر می‌رسد که محیط MS کامل به علت بالا بودن غلظت نمک‌های آن موجب کلروز و توقف رشد گشته بنابر این در مرحله استقرار توصیه نمی‌شود. بیشترین درصد جوانه فعال شده و شاخص کیفیت جوانه‌ها در محیط فاقد هورمون به دست آمده است (شکل ۱) در حالیکه با محیط حاوی BAP mg/l ۲ و NAA mg/l ۰/۰۵ تفاوت معنی‌داری نداشته است که با نتایج (Gural and Gulsen, 1998) در ریزازدیادی بادام مشابه بوده است.

در مرحله پرآوری، ژنوتیپ ها در میانگین طول شاخه ها و شاخص کیفیت تفاوت معنی داری در سطح ۵٪ داشته اند (جدول۲). ژنوتیپ HS706 با بیشترین طول شاخه و بالاترین

جدول ۲- اثر ژنوتیپ و غلظت‌های مختلف BAP بر پرآوری شاخه در پایه‌های هیبرید آلو × زردآلو.

Table 2- Effect of genotype and BAP concentration on shoot proliferation of apricot × plum hybrid rootstocks

| | | | تعداد شاخه Shoot no. | طول شاخه Shoot length (mm) | تعداد برگ Leaf no. | طول بزرگترین برگ (mm) Largest leaf length | شاخص کیفیت Quality index | شاخص کلروز Chlorosis index | درصد نکروز شاخه % Shoot Necrosis |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Genotype | ژنوتیپ | HS405 | 1.436a | 5.216b | 10.510a | 16.176a | 2.490b | 1.333a | 7.27a |
| | | HS706 | 1.160a | 7.714a | 10.810a | 18.952a | 2.809a | 1.142a | 16.00a |
| BAP | غلظت | 0 | 1.333b | 5.154b | 10.000b | 14.615b | 2.307b | 1.076b | 13.33a |
| BAP Concentration mg/l | | 1 | 1.160b | 3.870b | 6.913b | 14.565b | 2.391b | 1.695a | 8.00a |
| | | 2 | 1.400b | 6.348ab | 11.957ab | 16.870ab | 2.652b | 1.087b | 8.00a |
| | | 4 | 1.690a | 9.692a | 15.308a | 23.846a | 3.076a | 1.076b | 13.33a |

میانگین‌هایی، در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

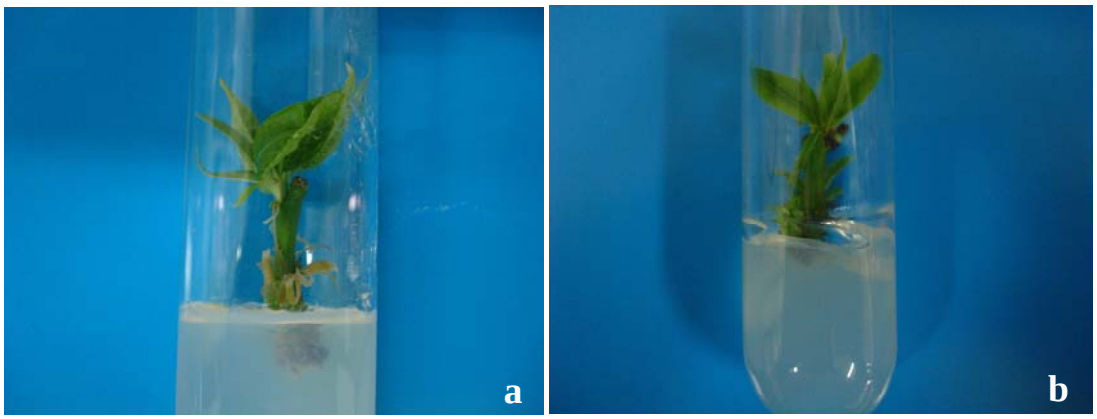
Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level- using Duncan's Multiple Range test.

شاخص کیفیت: ۱= ضعیف؛ ۲= متوسط؛ ۳= خوب و ۴= عالی

Quality index: 1= Weak; 2= Medium; 3= Good and 4= Excellent.

شاخص کلروز: ۱= بدون کلروز، ۲= کلروز کم و ۳= کلروز زیاد

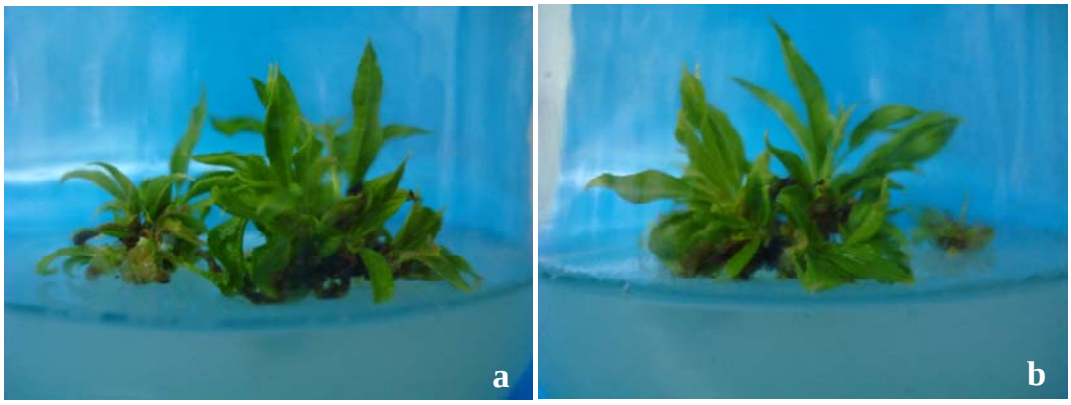
Chlrosis index: 1= No chlorosis, 2= Little chlorosis and 3= High chlorosis.




شکل ۱- استقرار دو ژنوتیپ HS405 و HS706 در محیط WPM فاقد هورمون: a: ژنوتیپ HS706 و b: ژنوتیپ HS405

Fig. 1. Establishment of two apricot × plum genotypes; HS706 (a) and HS405 (b) on WPM without BAP

شاخص کیفیت پرآوری نسبتاً موفقی داشته است. بیشترین تعداد شاخه تشکیل شده و میانگین طول شاخه ها در غلظت ۴ BAP mg/l به دست آمده است (شکل ۲) که در طول شاخه ها این مقدار با ۲ BAP mg/l تفاوت معنی‌داری نداشته است. که با نتایج (Ainsley *et al.*, 2001) در ریزازدیادی پایه های بادام مشابه بوده است. با افزایش مقدار BAP تعداد برگ ها، طول بزرگ ترین برگ و شاخص کیفیت آنها افزایش داشته است به




شکل ۲- پرآوری دو ژنوتیپ HS405 و HS706 در محیط WPM حاوی ۴ BAP mg/l همراه با ۰/۵ $GA_3$ mg/l: a- ژنوتیپ HS706 و b- ژنوتیپ HS405.

Fig. 2. Shoot proliferation of two apricot × plum genotypes, (HS405 and HS706) on woody plant medium containing 4 mg/l BAP + 0.5 mg/l $GA_3$. a: HS706 genotype, b: HS405 genotype

طوری که بیشترین مقدار در ۴ BAP mg/l به دست آمده است.

به طور کلی محیط WPM فاقد هورمون و ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر $GA_3$ به ترتیب در استقرار و شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها در هر دو ژنوتیپ مؤثر بوده است و ژنوتیپ‌ها واکنش متفاوتی نسبت به ترکیبات محیط کشت در هر دو مرحله نشان داده‌اند. به طوری که ژنوتیپ HS405 در مرحله استقرار و ژنوتیپ HS706 در مرحله پرآوری موفق بوده‌اند.

**واژه‌های کلیدی:** دورگه بین گونه‌ای، استقرار، پرآوری، کلروز برگ و نکروز شاخه.

## References

**Ainsley, Ph. J., Collins, G. G. and Sedgley, M. 2001.** *In vitro* rooting of almond (*Prunus Dulcis Mill*.). *In Vitro* Cell. Devision of Biolology Plant 37: 778-785.

**Dejampour, J. 2007.** Evaluation of micropropagation potential and salt tolerance in some interspecific hybrid rootstocks of *Prunus*. Ph. D. thesis. Faculty of Agriculture, Tabriz University. Tabriz, Iran. (in Farsi)

**Dejampour, J., Gerigorian, V., Majidi, E. and Asgharzadeh, A. 2007.** Evaluation of some morphological characteristics and clonal propagation of some interspesific hybrids in *Prunus*. Journal of Horticulture Science 8 (1): 43-54.

**Gurel, S. and Gulsen, Y. 1998.** The effect of IBA and BAP on *in vitro* shoot production of almond (*Amygdalus comminus* L.).Turkish Journal of Botany 22: 375-379.

**Martinelli, A. 2005.** Factors affecting *in vit*ro propagation of the peach-almond hybrids "Hansen 2168" and "Hansen 538". Acta Horticulture 173: 237-244.

**Perez Tornero, O., Lopez, J. M., Egea, J., and Burgos, L. 2000.** Effect of basal media and growth regulators on the *in vitro* propagation of apricot (*Prunus armeniaca* L.) *cv.* Cannino. Journal of Horticulture Science & Biotechnology 75 (3): 283-286.