دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrfpbgr.2017.110124.1252
جلد ۲۶، شماره ۱، صفحه ۱۲۰-۱۱۴ (۱۳۹۷)

بررسی اثرات بافت نورسته و هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی در تکثیر درون‌شیشه‌ای گیلاس وحشی (*Prunus avium* L.)

علی جعفری مفیدآبادی[۱]*، منصوره کمندلو[۲] و عبدالرحیم نظری[۲]

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، دانشیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گلستان

پست الکترونیک: jafarimofidabadi@gmail.com

۲- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گلستان

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۳/۲۴

چکیده

ضرورت تکثیر تجاری گیلاس وحشی به‌روش سنتی و یا ریزازدیادی در احیاء و توسعه جنگل‌ها و تهیه پایه برای پیوند ارقام تجاری گیلاس احساس می‌شود. برای ریزازدیادی و به‌منظور تهیه بافت نورسته (شاخسار درون‌شیشه‌ای) به‌عنوان هسته اولیه و شروع چرخه تکثیر، کشت جنین بالغ مورد استفاده قرار گرفت. برای تهیه شاخسار، جنین‌های بالغ ایزوله شده به محیط کشت MS حاوی غلظت ۳۰ و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز منتقل شد. تجزیه‌وتحلیل میانگین داده‌ها بر اساس آزمون t نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های ساکارز در سطح ۵٪ وجود نداشت. محیط کشت MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز موجب ۷۰/۴٪ جوانه‌زنی جنین و موجب بیشترین رشد رویشی شاخسار پس از جوانه‌زنی شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها بر اساس طرح فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی برای بیان اثرات هورمون‌های رشد گیاهی در پرآوری، بیانگر وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد بین هورمون‌های رشد گیاهی برای اندازه طول ساقه و برای تعداد ریزنمونه قابل استحصال است. محیط کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA موجب بیشترین رشد طولی ساقچه (۵/۸۶ سانتی‌متر) و بیشترین تعداد ریزنمونه (۳/۸۷) در چرخه پرآوری شد. گیاهچه‌ها در ارتفاع ۴ تا ۵ سانتی‌متری پس از تهیه ریزنمونه (قطعات تک‌جوانه) در محیط کشت MS فاقد هورمون‌های رشد گیاهی ریشه‌دار شده و پس از انجام سازگاری تدریجی موفق، به گلخانه منتقل شدند.

واژه‌های کلیدی: بافت نورسته، گیلاس وحشی، تولید پایه، ریزازدیادی و جنگل‌کاری

مقدمه

تولید انبوه نهال از درختان نخبه گیلاس وحشی یکی از ضرورت‌ها در احیاء و توسعه جنگل‌ها در رویشگاه‌های اختصاصی آن است (Haj-Najjari *et al.*, Izadpanah, 2004; 2008). ضمن اینکه این درختان به‌عنوان پایه برای ارقام تجاری گیلاس پیشنهاد شده است (Kangi *et al.*, 2008). مشکلات جوانه‌زنی بذرهای این گونه در نهالستان‌ها برای تولید نهال، موجب به‌کارگیری روش‌های مختلف کشت بافت در تکثیر این گونه شد (Haj-Najjari *et al.*, Izadpanah, 2004; 2008). در روش‌های کشت بافت از کشت مریستم، کشت جوانه‌های منفرد، جوانه جانبی و جوانه انتهایی، کشت شاخساره‌ها و قطعات ساقه تک جوانه (Kangi *et al.*, 2008

ایجاد (Karamed *et al*., 2014; Zarei *et al*., 2013; اندام‌های نابجا (باززایی مستقیم یا غیرمستقیم) و رویان‌زایی سوماتیکی مستقیم و غیرمستقیم برای تکثیر کلنی استفاده می‌شود (Jafari Mofidabadi, ; Daneshvar *et al*., 2010 2006). از دیگر روش‌های تکثیر غیرجنسی خاص مانند همانندسازی گیاهان زینتی (Lakshmanan *et al*., 1995)، از ریزپیوندی (Fifaei *et al*., 2007; Onay *et al*., 2004; Naz *et al*., 2007) نیز برای تکثیر استفاده شده است. روش‌های کشت بافت در تکثیر و ازدیاد از طریق جداکشت‌های تهیه شده از درختان بالغ و مسن با مشکل همراه است. با وجود این، کشت قطعات ساقه تک‌جوانه ایزوله شده از درختان بالغ و نخبه گیلاس وحشی (Haj-Najjari *et al*., Izadpanah, 2004 2008;) و رقم تجاری گیلاس (Akita *et al*., 2006 *et al*., Al-Sabagh 1999;) و در تکثیر پایه‌های رویشی گیلاس رقم گیزیلا (Andersen *et et al*., 1999) مورد استفاد قرار گرفت. تکثیر غیرجنسی به روش‌های کشت بافتی از درختان نخبه اغلب در گرو اعمال شیوه‌های تهیه بافت گیاهی نورسته و دوباره جوان شده از بافت‌های قدیمی آنهاست (Jafari Mofidabadi, 2006). برای این منظور روشهای متعدد تهیه بافت جوان به‌عنوان منشأ جداکشت در دستیابی به ضریب ازدیاد اقتصادی گزارش شده است (Matt & Johannnes 2005 و Baghwat & Lane 2004). یکی از شیوه‌های معمول در تهیه بافت‌های جوان (بافت نورسته)، کشت درون‌شیشه‌ای جنین‌های بالغ و تهیه جداکشت از شاخسارهای درون‌شیشه‌ای است. این بررسی برای ارزیابی فاکتورهای مؤثر در ایجاد شاخسارهای درون‌شیشه‌ای به‌عنوان بافت نورسته از کشت جنین بالغ و تشکیل چرخه تولید نهال انبوه از قطعات ساقه تک‌جوانه حاصل از آن برای مقاصد احیاء جنگل‌ها و تهیه پایه مناسب برای انجام پیوندک ارقام گیلاس تجاری و توسعه باغ‌های تجاری انجام شد.

مواد و روش‌ها

تهیه گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای حاصل از کشت جنین

درخت بالغ گیلاس وحشی از ژنوتیپ‌های نخبه با سن تقریبی حدود یکصد سال واقع در جنگل آموزشی و پژوهشی شصت‌کلا متعلق به دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انتخاب شد. برای تهیه گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای به‌عنوان بافت نورسته، میوه‌های نارس حاوی جنین‌های بالغ از رویشگاه مذکور جمع‌آوری شدند. پیش‌سترون‌سازی زیر آب جاری به‌مدت دو ساعت انجام شد. پس از حذف پوسته بیرونی، سترون‌سازی به‌ترتیب با اتانول ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه، محلول ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به‌مدت۲۰ دقیقه و شستشو با آب مقطر استریل سه بار هر بار به‌مدت پنج دقیقه انجام گردید. برای جوانه‌زنی جنین، تخمک‌ها با حذف پوسته چوبی بر روی محیط کشت MS (Murashig & Skoog, 1962) فاقد هورمونی‌های رشد گیاهی با دو غلظت ۳۰ و ۶۰ گرم در لیتر منتقل شدند. در ضمن pH محیط کشت قبل از اتوکلاو روی ۵/۶ تنظیم شد. آگار به‌مقدار ۷ گرم در لیتر اضافه گردید. داده‌های جمع‌آوری شده برای مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تخمک در دو محیط کشت بر اساس آزمون t-Student تجزیه‌وتحلیل شد.

پرآوری

برای چرخه پرآوری، قطعات ساقه حاوی تک‌جوانه جانبی و انتهایی از گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای جدا و به‌محیط کشت MS حاوی ۳۰ و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز و ترکیبی از هورمون‌های رشد گیاهی (BA با غلظت ۲، ۴، ۶ و ۸ میلی‌گرم در لیتر و IBA با غلظت ۰/۱، ۰/۲، ۰/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) منتقل شدند. داده‌ها بر اساس طول گیاهچه‌های حاصل و امکان تهیه جداکشت متعدد تحت تأثیر محیط‌های کشت مذکور جمع‌آوری و بر اساس طرح آماری فاکتوریل در قالب بلوک‌های کامل تصادفی مورد تجزیه‌وتحلیل قرار گرفتند. بازکشت نمونه‌ها به‌صورت هر ۴ هفته یکبار انجام شد. ریشه‌زایی گیاهچه‌ها در محیط کشت MS با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA انجام شد. ظروف حاوی نمونه‌های کشت شده در اطاق رشد با شدت نوری ۴۵۰۰-۵۰۰۰ لوکس حاصل از

لامپهای یک در میان آفتابی و مهتابی و با دمای ۳± ۲۵ سانتی‌گراد و طول روز ۱۶ ساعت نگهداری شدند.

نتایج

تخمک‌های ایزوله شده از میوه نارس گیلاس وحشی، به‌منظور تهیه بافت جوان (نورسته) برای تشکیل چرخه تکثیر درون‌شیشه‌ای، یک هفته پس از انتقالشان به محیط‌های کشت حاوی ۳۰ و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز شروع به جوانه‌زنی نمودند. مقایسه میانگین درصد جوانه‌زنی تخمک در دو محیط کشت بر اساس آزمون مقایسه میانگین به‌روش T- Student نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین مقدار ساکارز در محیط کشت MS در سطح ۵ درصد وجود ندارد. هفتاد درصد تخمک‌های کشت شده در محیط کشت MS حاوی ساکارز ۳۰ گرم و ۶۰ گرم (به‌ترتیب ۷۰/۴۰ و ۷۰/۲۰ درصد) جوانه زده‌اند (جدول ۱). چرخه تکثیر با تهیه ریزنمونه قطعات ساقه تک‌جوانه از گیاهچه‌های حاصل از کشت تخمک و انتقال آنها در شرایط سترون به محیط‌های کشت پرآوری (جدول ۳ و ۴) انجام شد (شکل ۱). تجزیه‌وتحلیل داده‌های طول گیاهچه و تعداد جداکشت قابل استحصال از آنها برای بیان اثرات هورمون‌های رشد محتوای محیط کشت پرآوری (تکثیر انبوه) نشان داد که اختلاف بسیار معنی‌داری بین آنها در سطح یک درصد وجود دارد (جدول ۲). مقایسه میانگین تیمارهای هورمونی نیز نشان داد که محیط کشت MS با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین رشد متوسط طولی ساقچه (۵/۸۶ سانتی‌متر) و بیشترین تعداد ریزنمونه (۳/۸۷) را داشته و در یک طبقه جداگانه با سایر تیمارها قرار گرفت (جدول ۳ و ۴). گیاهچه‌ها پس از ریشه‌دار شدن برای سازگاری تدریجی ابتدا به گلخانه و بعد به نهالستان انتقال یافته‌اند.

جدول ۱- مقایسه میانگین جوانه‌زنی جنین تحت تأثیر غلظت ساکارز در گیلاس وحشی

تیمار	تعداد	میانگین	گروه‌بندی
MS+30g/l Sucrose	۵۰	۷۰/۴۰	a
MS+ 60 g/l Sucrose	۵۰	۷۰/۲۰	a

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر هورمون‌های رشد گیاهی محتوی محیط کشت MS بر روی طول درون‌شیشه‌ای ساقه و تعداد جداکشت ممکن پس از یک واکشت

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول گیاهچه	تعداد جداکشت
بلوک	۳	۱/۵۵	۰/۴۷۲۲۲۲
محیط کشت	۵	۱۰/۷۴**	۵/۱۵**
ساکارز	۱	۲۶/۰۲**	۲/۰۸۳۳۳۲*
بلوک * تیمار	۵	۰/۶۷۶	۰/۲۸۳۳۳۳
اشتباه نمونه‌برداری	۳۳	۰/۶۰۸	۰/۳۲۰۷۰۷
کل	۴۷		

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

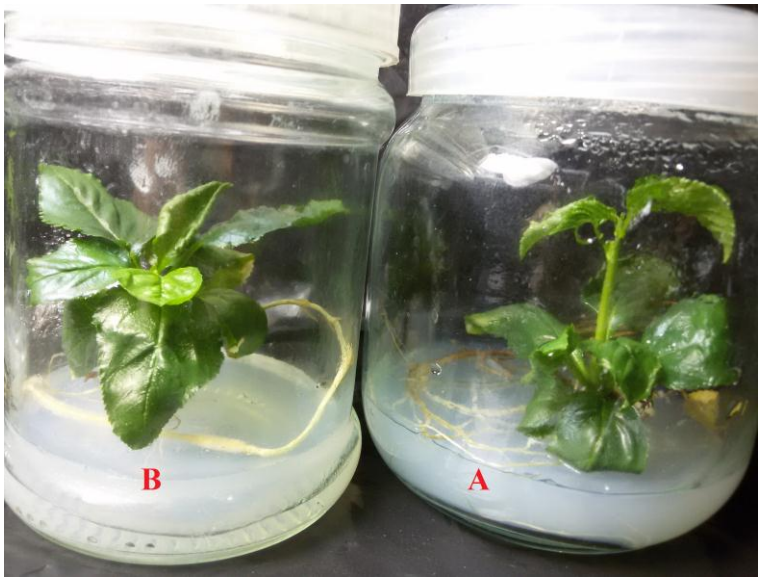
جدول ۳- مقایسه میانگین رشد طولی (سانتی‌متر) ساقه درون‌شیشه‌ای تحت تأثیر هورمون‌های رشد گیاهی

تیمارهای هورمونی	میانگین	گروه‌بندی
۱	۲/٦۲	d
۲	۳/٤٦	c
۳	۳/۳۳	d
٤	۳/٦۸	c
۵	٤/۷۳	b
٦	۵/۸٦	a

تیمار۱= شاهد، تیمار ۲= MS+2mg/l IBA، تیمـار ۳= MS+2mg/l+ 0/1 mg/l IBA، تیمـار٤= MS+8mg/l، تیمـار۵= MS+6mg/l BA+ 0/5 mg/l IB، تیمار ٦= MS+4mg/l+ 0/2 mg/l IBA

جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد جداکشت درون‌شیشه‌ای تحت تأثیر هورمون‌های رشد گیاهی پس از یک واکشت

تیمار	میانگین	گروه‌بندی
۱	۱/۷۵	d
۲	۲/۱۲	c
۳	۲/۱۲	c
٤	۲/٦۲۵	c
۵	۳/۲۵	b
٦	۳/۸۷	a



شکل ۱- گیاهچه حاصل از کشت جنین برای تهیه ریزنمونه (A). تهیه ریزنمونه (قطعات ساقه حاوی جوانه جانبی) و ریشه‌زنی آن برای شروع چرخه تکثیر (B)

بحث

افزودن ساکارز با غلظت‌های متفاوت به محیط کشت‌های در تکامل و جوانه‌زنی جنین به‌عنوان منبع اصلی هیدروکربنی به‌ویژه در جنین‌های نارس به‌همراه سایر مکمل‌های غذایی از اهمیت زیادی برخوردار است. از این‌رو در قسمت اول آزمایش برای تهیه گیاهچه از جنین و ریزنمونه‌های نورسته از آن، ساکارز مورد استفاده قرار گرفت. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین مقدار ۳۰ و ۶۰ گرم در لیتر ساکارز در محیط کشت MS در این بررسی نشان می دهد که جنین بالغ گیلاس وحشی برای جوانه‌زنی درون‌شیشه‌ای و رشد شاخسارهای ناشی از آن نیازمند به ساکارز ۳۰ گرم در لیتر می‌باشد. اثرات غلظت متعدد ساکارز به‌عنوان منبع اصلی کربوهیدرات‌ها در محیط کشت، بر روی تکامل درون‌شیشه‌ای و جوانه‌زنی جنین‌های بالغ و نارس گیاهان زراعی و باغی مختلف گزارش شده است. کشت جنین بالغ صنوبر پده در تلاقی با صنوبر کبوده توسط (Jafari Mofidabadi & Modir Rahmati, 2000)، در تغذیه مصنوعی جنین برای تولید هیبرید گیاه *کلم* (Agnihotri *et al*., 1990)، سیب‌زمینی(Alexander, 1965) و در تلاقی گندم نان با گیاه مرتعی اگروپیروم از خانواده گرامینه (Alonso & Kimber, 1980) گزارش شد. تکثیر انبوه درختان به‌روش درون‌شیشه‌ای در گرو استفاده از بافت‌های جوان گیاهی به‌ویژه ایجاد جوانه‌های نابجا از جدا کشت‌های مختلف می‌باشد. در این بررسی از کشت جنین بالغ گیلاس وحشی برای تهیه منبع بافتی جوان استفاده شد. برتری بافت نورسته برای تهیه ریزنمونه و پرآوری در مقایسه اثرات بافت جوان و بالغ در پرآوری درون‌شیشه‌ای گیاهان باغی نیز گزارش شده است (Preece *et al*., 1991; Perez *et al*., 2000). هورمون‌های رشد گیاهی با ترکیبات و غلظت‌های مختلف به‌تنهایی برای افزایش ضریب ازدیاد (پرآوری) در تکثیر ارقام تجاری گیلاس و در گیلاس وحشی برای تهیه پایه مؤثر گزارش شده است. در این بررسی استفاده از بافت‌های جوان و هورمون‌های رشد گیاهی BA و IBA به‌ترتیب با غلظت ۴ و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر موجب بیشترین رشد رویشی (طول ساقه) و زمینه بیشترین تعداد جداکشت شد. بیشترین میزان پرآوری درون‌شیشه‌ای گیلاس رقم گیزلا (Sisko, 2011; Tang *et al*., 2002)و گیزلا ۶ (Zarei *et al*., 2013) از روی ریزنمونه‌های حاصل از درختان بالغ در محیط کشت MS با هورمون رشد ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز گزارش شد. ریزازدیادی چهار ژنوتیپ مهلب (*Prunus mahaleb* L.) برای تهیه پایه مناسب پیوند آلبالو و گیلاس تجاری با استفاده از محیط کشت MS محتوی ۱ میلی‌گرم در لیتر GA جیبرلیک اسید و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA بنزیل آدنین گزارش شد (Kangi *et al*., 2008). ریزازدیادی یک ژنوتیپ از گیلاس وحشی جامعه جنگلی منطقه شهرستان نور با استفاده از محیط کشت تغییر یافته بر مبنای تغییر در منابع نیتروژنی نیز گزارش شد (Haj-Najjari *et al*., 2008). تهیه بافت جوان (شاخه‌های نابجا) با استفاده از محیط‌های کشت پایه WPM, DKW و QL در حضور هورمون‌های رشد گیاهی TDZ و BA هریک با غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و محیط‌های کشت QL و WPM با هورمون‌های رشد TDZ و BA با غلظت یک میلی‌گرم در لیتر، با کشت ریزنمونه برگ و قطعات میان‌گره برای پرآوری حاصل شد (Akita *et al*., 2006). بیش از ۷۵ درصد ریزنمونه‌ها (قطعات ساقه تک جوانه) پس از استقرار، در محیط کشت MS با غلظت ۱ میلی‌گرم در لتیر IBA و ۰/۵ میلی‌گرم NAA ریشه‌دار شدند (شکل ۲). مشابه نتایج این بررسی، یعنی استفاده از هورمون رشد گیاهی IBA با غلظت‌های متفاوت با توجه به شرایط آزمایش، ریشه‌زایی موفقی را در گیاهچه‌های پرآوری شده به همراه داشت (Kangi *et al*., 2008; Izadpanah, 2004; Haj-Najjari *et al*., 2008; Karamed *et al*., 2014).

سپاسگزاری

بدین وسیله از کمک‌های سازمان جهاد کشاورزی استان گلستان (معاونت بهبود تولیدات گیاهی) در انجام تحقیق مذکور قدردانی و تشکر به عمل می آید.

منابع مورد استفاده:

-Agnihotri, A., Shivanna, K.R., Raina, S.N., Lakshmikumaran, M., Prakash, S. and. Jagannathan, B., 1990. Production of *Brassica napus* × *Raphanobrassica* hybrids by embryo rescue: An attempt to introduce shattering resistance into *B. napus*. Plant Breeding, 105: 292–299.

-Akita, M., Negishi, K., Kitano, A., Wasaki, M., Ohta, Y., Kuriu, T. and Takii, T., 2006. Mass propagation of cherry (*Prunus cerasus* × *Yedonsis matusum*) through shoot primordial. Acta Horticulturae, 725: 579-584.

-Alexander, L.J., 1965. Embryo culture of tomato interspecific hybrids (Abstract). Phytopath, 46: 6.

-Alonso, L.C. and Kimber, G., 1980. A hybrid between diploid *Agropyron junceum* and *Triticum aestivum*. Cereal Res. Comm,8: 355–358.

-Al-Sabagh, M., Abdul-Kader, A., Khoder, M. and Abdul-Rahman, A., 1999. *In vitro* propagation of semi-dwarf cherry rootstock. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 59: 203-208.

-Andersen, R.L., Robinson, T. and Lang, G.A., 1999. Managing the Gisela cherry rootstocks. New York Fruit Quarterly, 7(4): 1-4.

-Baghwat, B. and Lane, D., 2004. *In vitro* shoot regeneration from leaves of sweet cherry (*Prunus avium*) 'Lapins' and 'Sweet heart'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 78(2): 173-181.

-Daneshvar Hossini, A., Ganji-Moghadam, E. and 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.

-Fifaei, R., Golein, B., Taheri, H. and Tadjvar, Y., 2007. Elimination of citrus tristeza virus of washington navel orange (*Citrus sinensis* [l.] osbeck) through shoot-tip grafting. International Journal of Agriculture and Biology, 30:1560–8530.

-Haj-Najjari, H., Hasanloo, T., Asgheri- Hoshmand, A. and Izad-Penah, M., 2008. Effect of Nitrogen sources on growth behavior of *in vitro Prunus avium* L shoots. Pajouhesh & Sazandegi, No:64 pp: 63-70

-Izadpanah, M., 2004. Effect of ages and genotypes on *in vitro* proliferation of *Prunus avium* through axillary and terminal buds. Pajouhesh & Sazandegi No:64 pp: 63-70

-Jafari Mofidabadi, A., 2006. *In vitro* plant breeding and micropropagation methods. Reasearch Institute of Forests and Rangelands, Pp 185.

-Jafari Mofidabadi, A., Modir Rahmati, A., 2000. Production *Populus euphratica Olive. Xp. alba L*. hybrid poplar through ovary and ovule cultures. Plant Genetic Newsletter, 122:13-15.

- Jafari Mofidabadi, A., 2015. Effect of juvenile tissue and plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of *Pronus avium* L. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23:1-49-55

-Kangi , A., Bolandi, A., and Anahid, S., 2008. Micropropagation of four selected dwarf mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) genotypes. Pajouhesh & Sazandegi, 79: 54-61

-Karamed, A., Ganji Moghadam, A . and Bolandi, A., 2014. Effects of culture media and growth regulators on micropropagation of Gisela 6 rootstock. J. Agriculture Plants Improvement, 2(16): 15-21.

-Lakshmanan, P., Loh, C.S. and Goh, C.J., 1995. An *in vitro* method for rapid regeneration of a monopodial orchid hybrid *Aranda deborah* using thin section culture," Plant Cell Reports, 14: 510–514.

-Matt, A. and Johannnes, A.J., 2005. *In vitro* plant regeneration from leaves and internodes sections of sweet cherry cultivars (*Prunus avium* L.). Plant Cell Reports, 24(8): 468-476.

-Murashig, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473-497.

-Naz, A., Muhamed, J., Jaskani, H. A. and Qasim, M., 2007. *In vitro* studies on micrografting technique in two cultivars of citrus to produce virus free plants. Pak. J. Bot., 39(5): 1773-1778, 2007.

-Onay, A., Pirinc, V., Yıldırım, H. and Basaran, D., 2004. *In vitro* micrografting of mature pistachio (*Pistacia vera* var. Siirt). Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 77: 215-219

-Perez-Tornero, O., Egea, J., Vanoostende, A. and Burgos, L., 2000. Assessment of factors affecting adventitious shoot regeneration from *in vitro* cultured leaves of apricot. Plant Science, 158: 61-70.

-Preece, J.E. and Sutter, E.G., 1991. Acclimatization of micropropagated plants from greenhouse and field, Micropropagation Technology and Application (Kluwer Academic Publishers, Dordrecht), pp. 71–93.

-Sisko, M., 2011. *In vitro* propagation of Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *P. canescens*). Agriculture, 8: 31-34.

-Tang, M., Pen, Z.L. and Krczal, G., 2002. Plant regeneration from leaves of sweet and sour cherry cultivars. Scientia Horticulturae, 93(3): 235-244.

-Zarei, M.L., Garoosi, G.h., Nezami, E. M. , Hosseini, R. and Ahmadi, J., 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 & Tissue, 4.(2): 169-185

Effect of juvenile tissue and plant growth regulators on *in vitro* shoot proliferation of *Pronus avium* L.

A. Jafari Mofidabadi*[1], A.R. Nazari[2] and M. Kamandloo[2]

1- Corresponding author, Assoc. Prof., Agriculture and Natural Resources Research Centre of Gorgan, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, I.R. Iran. Email: jafarimofidabadi@gmail.com
2 -M.Sc., Agriculture and Natural Resources Research Centre of Gorgan, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Gorgan, I.R. Iran.

Received: 07.01.2017 Accepted: 14.06.2017

Abstract

Propagation of Pronus avium L. through conventional micropropagation is essential for forest development and production of scion for grafting of commercial Pronus varieties. For micropropagation and production of juvenile tissue as an initial source of proliferation, mature embryo explants were used. For in vitro shoots preparation, isolated embryos of mature trees were transferred into MS medium containing 30 and 60 g/l sucrose. There were no significant differences between MS media containing 30 and 60g/l for percentage of embryo germination using t-Student test. Factorial analysis of collected data for further shoot proliferation indicated that there were highly significant differences between the used growth regulators for in vitro shoot length and number of produced explants at α=0.01 level. The highest average shoot length (5.86 cm) and the highest mean number of explants production were observed on MS medium supplemented with 4 mg/l BA and 0.2 mg/l IBA. Plantlet at 4 to 5 cm in height were rooted in MS hormone free medium and after successful acclimatization transferred to a green-house.

Keywords: Juvenile tissue, micro propagation, Pronus avium L., Scion production, and Reforestation