مقاله پژوهشی

مجله سلول و بافت (علمی - پژوهشی)
جلد ٤، شماره ۲، تابستان ۱۳۹۲، ۱۸۵-۱٦۹

تاثیر محیط کشت، منبع کربن و طیف نور در نوساقه‌زایی و شیوه تیمار اکسین در ریشه‌زایی پایه رویشی Gisela 6

موسی زارعی [۱]، قاسمعلی گروسی .Ph.D [۲*]، اسماعیل نظامی .M.Sc [۳]، رامین حسینی .Ph.D [۲]، جعفر احمدی .Ph.D [۲]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)، دانشکده فنی و مهندسی، ایران، کد پستی: ۱۶۱۸۱۸-۳۴۱۴۹

۲- دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) ، دانشکده فنی و مهندسی، گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، قزوین، ایران، کد پستی: ۱۶۱۸۱۸-۳۴۱۴۹

۳- کارشناس ارشد گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) ، دانشکده فنی و مهندسی ، ایران، کد پستی ۱۶۱۸۱۸-۳۴۱۴۹

* پست الکترونیک نویسنده مسئول: agaroosi90@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۷/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۲/۱۰

چکیده

هدف: به منظور بومی‌سازی و بهینه‌سازی ریزازدیادی گزیلا ۶، یکی از پایه‌های مفید اکثر گونه‌های هسته‌دار به‌ویژه گیلاس، اثر نوع محیط کشت، منبع کربن، نور و شیوه کاربرد اکسین در نوساقه‌زایی و ریشه‌زایی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: تاثیر مستقل۶ نوع محیط کشت، ۵ منبع کربن و ۳ طیف نور همراه با غلظت‌های مختلف BA و IBA با استفاده از جوانه‌های جانبی به‌عنوان ریزنمونه روی میزان نوساقه‌زایی و طول نوساقه‌ها مطالعه گردید. درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه‌ها به دو روش: پالسینگ پایه نوساقه‌ها در ۱ میلی‌گرم در لیتر محلول IBA و NAA در زمان‌های متفاوت و کشت نوساقه‌ها در محیط جامد حاوی ۶ غلظت از هورمون‌های IBA و NAA بررسی شد.

نتایج: MS مناسب‌ترین محیط کشت بوده و بیشترین تعداد و طول نوساقه به‌ترتیب در MS حاوی ۳۰ گرم در لیتر شکر معمولی (۳/۸۰ نوساقه) و ساکارز (۷/۵۶ میلی‌متر) به‌دست آمد. نور سفید و نور قرمز به ترتیب بیشتر در تعداد نوساقه‌زایی و طول نوساقه‌ها موثر می‌باشد. بیشترین تحریک ریشه‌زایی در روش پالسینگ در حضور۱ میلی‌گرم در لیتر IBA در مدت ۱۰ و ۲۰ دقیقه اتفاق افتاد.

نتیجه گیری: شرایط بهینه رشد در مرحله ازدیاد نوساقه عبارت بود از کشت ریزنمونه‌ها در محیط MS حاوی شکر معمولی و BAP ۱ میلی‌گرم در لیتر تحت نور سفید و استفاده از روش پالسینگ نوساقه‌ها در محلول هورمون IBA برای ریشه‌زایی.

واژگان کلیدی: ریشه‌زایی، ساقه‌زایی، طیف نور، گزیلا ۶، منبع کربن

مقدمه

به‌منظور غلبه بر مشکلات موجود در تکثیر رویشی ارقام و کلون‌های گیلاس، روش‌های ازدیاد درون شیشه در سال‌های اخیر توسعه یافته‌اند. این روش‌ها بر پایه تحریک شاخه‌زایی جانبی یا تشکیل نوساقه‌های نابجا با اضافه کردن سیتوکنین‌ها به محیط کشت می‌باشند. سیستم‌های ریزازدیادی برای ارقام Prunus avium به میزان زیادی رشد و توسعه یافته و برای ژنوتیپ‌های درختان میوه جنگلی (۱ و ۲) یا تولید پایه‌های رویشی (۳، ۴ و ۵) نیز مورد آزمایش قرار گرفته‌اند. ثابت شده که ژنوتیپ‌های مختلف گیلاس در طی دوره استقرار و پرآوری ساقه در شرایط درون شیشه واکنش یکسانی را از خود نشان نمی‌دهند (۵ و ۶). علی‌رغم وجود گزارش‌های متعدد مرتبط با ریزازدیادی موفق، هنوز به تحقیقات بیشتری در انتخاب محیط کشت مناسب و استفاده درست از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی برای دستیابی به رشد و نمو بهینه ریزنمونه‌ها لازم و حیاتی است (۷و ۸). تاثیر محیط‌های کشت و تنظیم کننده‌های رشد مختلف روی پرآوری ساقه و ریشه‌زایی اکثر گونه‌های گیاهی مانند گونه-های Prunus (۹، ۱۰ و ۱۱)، گیلاس (۷، ۱۲، ۱۳، ۱۴، ۷، ۱۵ و ۱۶)، بادام (۱۷ و ۱۸)، زیتون (Olea) (۱۹، ۲۰ و ۲۱) و گلابی (Pyrus) (۲۲، ۲۳ و ۲۴) مورد بررسی قرار گرفته است. در این رابطه از تحقیقات انجام گرفته در ایران می‌توان به آزمایش‌های تاتاری و همکاران (۲۵)، روستایی و همکاران (۸)، مهدویان و همکاران (۲۶) اشاره کرد. دانشور حسینی و همکاران (۲۷) در مطالعات خود روی پایه رویشی Gisela 6 اعلام کردند که بیشترین میزان پرآوری در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP) و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) به دست آمد.

مطالعات زیادی در رابطه با نوع و غلظت مناسب هر کدام از سیتوکنین‌ها روی گونه‌های مختلف انجام گرفته است. امروزه به خوبی مشخص شده است که سیتوکنین‌ها باعث افزایش رشد وتقسیم سلولی در کشت بافت گیاهی شده و در پرآوری ساقه، با کاهش غالبیت انتهایی، رشد جوانه‌های جانبی را در کشت نوساقه افزایش می‌دهند (۲۸ و ۱۵).

برای تحریک ریشه‌زایی اکسین‌های مختلفی مانند IBA، IAA و NAA ممکن است مورد استفاده قرار گیرد که انتخاب نوع و غلظت هر کدام از اکسین‌ها و همچنین شرایط مختلف فیزیکی و شیمیایی محیط کشت می‌تواند در میزان موفقیت موثر باشد (۱۵)؛ بعنوان نمونه، ریشه‌زایی در برخی از گونه‌های چوبی از جمله Prunus با قرار دادن ریزنمونه‌های کشت شده در شرایط تاریکی در طی هفته اول می‌تواند افزایش یابد (۲۹ و ۳۰).

در رابطه با تاثیر طیف نور روی پرآوری و دیگر خصوصیات رویشی گونه‌های چوبی مطالعات بسیار کمی انجام شده و اطلاعات چندان زیادی موجود نیست (۳۱). مولئو و همکاران (۳۲) اعلام کردند که تکثیر درون شیشه آلو در نتیجه دو فرایند مجزا اتفاق می‌افتد: تمایز جوانه‌های جانبی و سپس رشد و توسعه آن‌ها. نتایج تحقیقات آنان نشان داد که نور روی تمایز جوانه‌ها و غالبیت انتهایی ساقه‌ها تاثیر می‌گذارد و بدین ترتیب باعث به‌وجود آمدن ساختارهای تمایز یافته و انشعابات ساقه‌ها می‌شود.

کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع انرژی و تنظیم کننده فشار اسمزی محیط کشت نقش مهمی را در جنین‌زایی سوماتیکی ایفا می‌کنند (۳۳). شکر یک ترکیب بسیار مهم در محیط کشت می‌باشد که برای رشد و توسعه گیاه درون شیشه لازم و ضروری است. معمولا از ساکارز (دی ساکارید) با غلظت ۱/۵ به‌عنوان مناسب‌ترین منبع کربن در کشت‌های درون شیشه استفاده می‌شود (۳۴)، ولی در موارد خاص ممکن است توسط گلوکز و فروکتوز جایگزین شود (۳۵)، زیرا این کربوهیدرات به صورت طبیعی در گیاه تولید شده و انتقال می‌یابد (۳۴). به‌هرحال استفاده از شکر معمولی به‌عنوان جایگزین ساکارز تجاری قابل بررسی می‌باشد.

به هر حال با توجه به واکنش ویژه هر جنس، گونه و رقم خاص به عوامل مختلف محیط کشت، لازم است شرایط برای همان گیاه بهینه شود. برای پرآوری ساقه و تحریک ریشه‌زایی پایه Gesila 6 گیلاس در خارج از کشور و بومی سازی رشد و ریزازدیادی آن در داخل کشور مطالعه قابل توجهی انجام نشده است. لذا با توجه به اهمیت پایه و لزوم تامین نیاز داخل کشور، در این پژوهش تلاش شد اثر چند محیط کشت و منبع کربوهیدرات، غلظت‌های مختلف چند تنظیم کننده رشد و طیف نور را روی پرآوری و ریشه‌زایی آن به منظور تهیه یک دستورالعمل ریزازدیادی در شرایط درون شیشه با بهره‌وری مطلوب، صرفه جویی در زمان و کاهش هزینه‌های تولید مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

آماده سازی و استقرار ریزنمونه: برای تهیه ریزنمونه (جوانه جانبی یا انتهایی) در اردیبهشت ماه از شاخه نهال‌های یک ساله پایه Gisela 6 گیلاس (مرکز تحقیقات نهال و بذر کرج- ایران)، استفاده گردید. شاخه‌ها، قبل از برش در قطعاتی دارای ۱ تا ۲ جوانه به مدت حدود ۲ ساعت در زیر آب لوله‌کشی شستشو شدند. قطعات سپس به ترتیب با الکل ۹۶ درصد (V/V) به مدت ۳-۴ ثانیه، کلرید جیوه ۰/۰۵ درصد (W/V) به مدت ۳تا۴ دقیقه، ۵/۲۵٪ (V/V) هیپوکلرید سدیم به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و در نهایت ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو و در محیط MS حاوی ۲۰ گرم در لیتر ساکارز و ۰/۷ درصد فیتوآگار (شرکت Duchefa هلند) کشت و در اتاق رشد تحت شرایط محیطی با دمای ۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی با لامپ‌های فلورسنت سرد- سفید ($\mu mol\ m^{-1}\ S^{-1}$ ۶۵/۵) قرار داده شدند. به‌منظور ازدیاد و تهیه ریز نمونه لازم برای آزمایش‌های اصلی، هر ۲۱ روز و به مدت ۳ ماه نوساقه های رشد یافته به طول ۰/۵ تا ۱ سانتی متر به قطعات کوچک حامل ۱ تا ۲ جوانه تقسیم و در محیط غذایی تازه‌ی بالا و حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA زیرکشت گردیدند. در تمامی آزمایش‌ها ریز نمونه‌ها در داخل شیشه‌های ۲۸۰ میلی‌لیتری با درب‌های پلاستیکی شفاف حاوی حدود ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت جامد، ۴ تا ۵ ریزنمونه در شیشه، با pH=۵/۷ ، کشت شده و در شرایط محیطی یاد شده قرار داده شدند.

تعیین نمک‌غذایی مناسب برای ساقه‌زایی و شاخص‌های رشد: بدین منظور ۶ محیط کشت مختلف شامل MS (Murashige and Skoog)، 1/2MS، TK (Modified Knop)، WPM (Woody Plant Medium)، GNH (Garoosi, Nezami & Haddad) (۳۶) و mGNH (GNH تغییر شکل یافته) هر کدام حاوی ویتامین‌های مربوطه و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP همراه با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و با استفاده از جوانه‌های جانبی انفرادی حاصل از مرحله استقرار مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش با ۴ تکرار و ۵ ریزنمونه به ازای هر تکرار انجام شد. پس از ۴ هفته برخی شاخص‌های رشد مانند تعداد نوساقه کل، تعداد نوساقه سالم و طول کل نوساقه در هر ریز نمونه، طول هر نوساقه سالم، وزن نوساقه کل و وزن نوساقه‌های سالم یادداشت برداری گردید.

بررسی تاثیر منابع کربن روی پرآوری نوساقه: در این آزمایش با استفاده از جوانه‌های جانبی انفرادی حاصل از مرحله استقرار تاثیر کربوهیدرات‌های ساکارز، فروکتوز، گلوکز، مانیتول و شکر معمولی (محصول شرکت کیمیا قند آذر ایران) هر کدام در دو غلظت ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر در محیط کشت انتخابی آزمایش بالا (MS) حاوی غلظت‌های ثابت ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر به ترتیب BAP و IBA بر خصوصیات رشدی ریزنمونه‌ها مطالعه گردید. آزمایش در ۴ تکرار و ۵ ریزنمونه به ازای هر تکرار انجام و پس از ۳۰ روزتعداد نوساقه‌ها در هر ریزنمونه و طول آن‌ها یادداشت برداری شد.

بررسی تاثیر طیف نور و ترکیبات هورمونی روی پرآوری نوساقه: به منظور بررسی تاثیر طیف نور و ترکیبات هورمونی روی ریزازدیادی، ابتدا نوساقه‌هایی که به مدت ۴ هفته در مرحله استقرار رشد یافته بودند به قطعات کوچکتری حاوی ۱ تا ۲ جوانه جانبی برش داده و سپس در محیط MS حاوی تیمارهای ترکیبی از BAP در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر و IBA در سه غلظت ۰، ۰/۱ و ۰/۲ میلی گرم در لیتر در ترکیب با سه نوع طیف نوری، سفید ($100\ \mu mol.\ photons\ m^{-2}\ s^{-1}$)، آبی ($72\ \mu mol.\ photons\ m^{-2}\ s^{-1}$) و قرمز ($36\ \mu mol.\ photons\ m^{-2}\ s^{-1}$) کشت شدند. برای هر تیمار ۴ تکرار و به ازای هر تکرار نیز ۴ ریزنمونه منظور شده و پس از ۳۰ روز صفات ذکر شده در آزمایش قبل یادداشت برداری شد.

ریشه‌زایی: ویژگی‌های ریشه‌زایی به دو روش مورد مطالعه قرار گرفت: در روش اول (هورمون در محیط کشت) ریزنمونه‌های به طول ۲ تا ۳ سانتی متر در محیط ریشه‌زایی جامد MS ۱/۲ حاوی ۲۰ گرم در لیتر ساکارز، ۰/۶ درصد فیتوآگار و هورمون IBA و NAA هرکدام به طور جداگانه در ۶ غلظت ۱، ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ میلی گرم در لیتر قرار داده شدند. در روش دوم تحریک ریشه‌زایی، به شیوه تیمار ضربانی هورمون (Pulsing) (معرفی شده توسط ناملی و همکاران) (۳۷) ابتدا پایه نوساقه‌ها در مدت‌های مختلف (۳ثانیه، ۵، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۶۰ دقیقه) به‌طور جداگانه درهریک از تیمارهای مستقل هورمونی IBA و NAA هر کدام با غلظت ۱ گرم در لیتر قرار گرفته و سپس به محیط کشت مشابه روش اول، ولی فاقد هورمون منتقل شدند. در هر دو روش ریزنمونه‌های کشت شده ابتدا به مدت ۴ روز در تاریکی نگهداری شدند و سپس به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی انتقال یافتند. هر کدام از روش‌های ریشه‌زایی نیز در ۴ تکرار با ۴

نوساقه در هر تکرار انجام و پس از گذشت ۳۰ روز از تاریخ کشت تعداد و طول ریشه‌ها و نیز درصد ریشه‌زایی، یادداشت برداری شد.

روش‌های آماری مورد استفاده: آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح های کامل تصادفی طراحی و انجام شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای آماری SAS 9.1 و SPSS 16 و برای مقایسهٔ میانگین داده‌ها از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری ۵ درصد استفاده شد.

نتایج

بر اساس نتایج به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از آزمایش محیط کشت اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های مختلف کشت وجود داشت (جدول ۱). در رابطه با تمام مولفه‌های مورد مطالعه از جمله تعداد نوساقه کل و سالم، بیشترین طول نوساقه کل و سالم و همچنین بیشترین میزان وزن تر کل و وزن تر نوساقه‌های سالم بهترین نتایج در محیط کشت MS به‌دست آمد که می‌تواند به‌دلیل وجود مقادیر بالای نیتروژن (نیترات و آمونیوم) در ترکیب آن باشد. بر این اساس کمترین تعداد نوساقه کل و سالم به ترتیب در محیط‌های کشت GNH و WPM ، کمترین طول کل نوساقه و نوساقه سالم و همچنین کمترین میزان وزن تر کل نوساقه و نوساقه‌های سالم در محیط کشت mGNH به دست آمد (جدول ۲). تحت شرایط هورمونی ثابت نوساقه‌های رشد یافته در محیط MS شاداب‌تر، دارای رشد طبیعی‌تر و بیشتری نسبت به نوساقه‌های رشد یافته در سایر نمک‌ها بودند. به‌طور کلی می‌توان گفت ریزنمونه‌ها در نمک MS از رشد کیفی مطلوب‌تر و نرمال‌تری برخوردار بودند. در مقابل، نوساقه‌هایی که در نمک WPM رشد یافته بودند حالت بدشکل و شیشه‌ای شده داشته و ساقه‌ها آبدار، برگ‌ها باریک و لوله‌ای و رشد غیر طبیعی بودند. نوساقه‌های حاصل از محیط‌های GNH و mGNH دارای برگ‌های کوچک به رنگ سبز روشن بودند و در بین آن‌ها ساقه‌های شیشه‌ای و بدشکل هم به چشم می‌خورد با این تفاوت که نوساقه‌های حاصل از محیط mGNH حالت روزتی نیز داشتند. رشد نوساقه‌ها در محیط MS× ۱/۲ نسبت به محیط MS ضعیف‌تر بوده، برگ‌ها کمی باریک و کشیده و به رنگ سبز تیره بودند. رشد برگی و طول نوساقه‌ها در نمک TK در مقایسه با MS کمتر بود و نوساقه‌های بدشکل نیز در آن دیده می‌شد (شکل ۱).

جدول ۱: میانگین مربعات نوساقه‌زایی و طول نوساقه پایه رویشی Gisela 6 در مطالعه فاکتورهای محیط کشت.

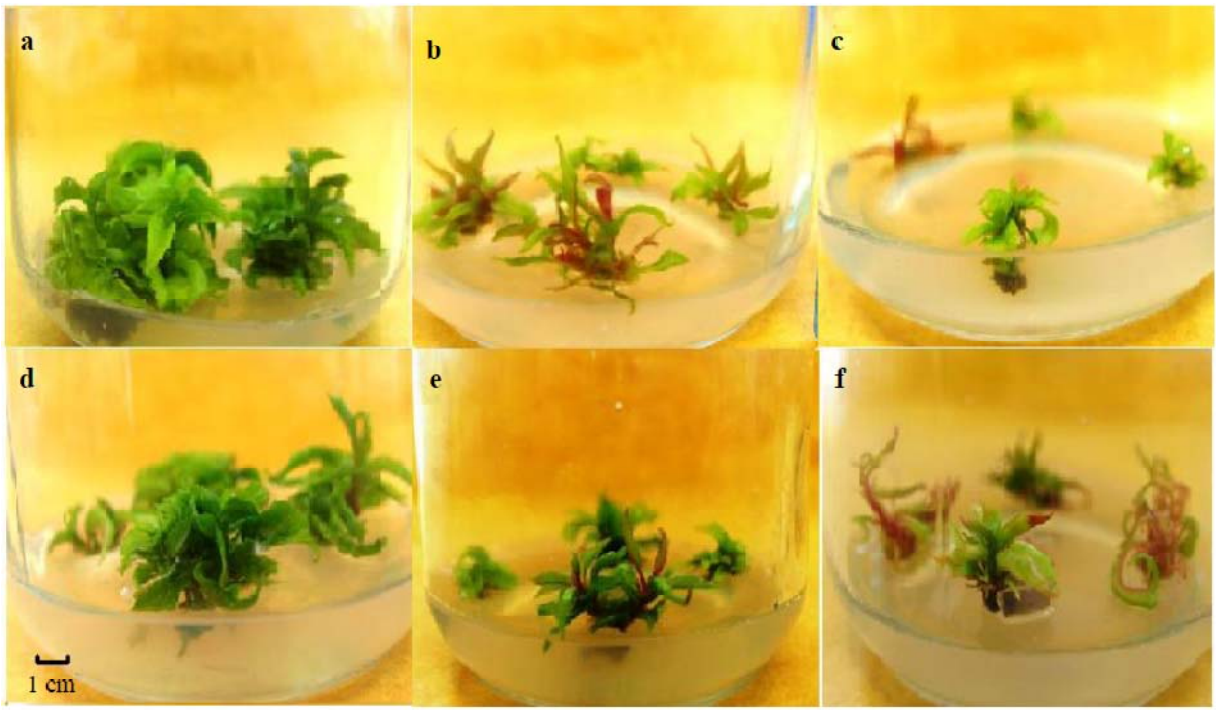
S.O.V	df	صفات مورد مطالعه	
		تعداد نوساقه	طول نوساقه
محیط کشت	۵	۴/۴۵**	۳۰/۱۴**
منبع کربن	۹	۱/۸۶**	۱۱۴/۴۲**
طیف نور	۲	۰/۳۵*	۳۶/۹۲**
BAP	۲	۱/۱۲**	۲۸/۳۴**
IBA	۲	۰/۴۶**	۱۰/۸۸**
طیف نور×BAP	۴	۰/۵۹**	۸/۴۶**
طیف نور×IBA	۴	۰/۱۷ns	۷/۸۳**
BAP×IBA	۴	۰/۲۴*	۰/۷۷ns
طیف نور×BAP×IBA	۸	۰/۱۱ns	۲/۷۵ns

***: معنی‌دار در سطح P< ۰/۰۱ ،*: معنی‌دار در سطح P< ۰/۰۵ ،ns: غیر معنی‌دار*

جدول ۲: تاثیر محیط کشت‌های مختلف روی صفات رشد پایه رویشی Gisela 6

محیط کشت	تعداد کل نوساقه	تعداد نوساقه سالم	طول کل نوساقه (mm)	طول نوساقه سالم (mm)	وزن کل نوساقه (gr)	وزن نوساقه سالم (gr)
MS	۵/۳۷±۰/۵۸ a	۵/۳۷±۰/۵۸a	۷/۵۴±۰/۵۷a	۷/۵۴±۰/۵۷a	۰/۴۳±۰/۰۶a	۰/۴۳±۰/۰۶a
GNH	۲/۸۱±۰/۳۶ c	۳/۰۷±۰/۳۷bc	۴/۹۳±۰/۸۲b	۳/۸۵±۰/۳۳cd	۰/۱۲±۰/۰۲cd	۰/۱۱±۰/۰۲c
mGNH	۲/۳۷±۰/۲۳ c	۲/۵۴±۰/۱۵c	۳/۴۸±۰/۲۴b	۳/۲۳±۰/۱۸d	۰/۰۶±۰/۰۱d	۰/۰۵±۰/۰۱c
1/2×MS	۴/۴۳±۰/۶۶ ab	۴/۴۳±۰/۶۶ab	۵/۱۳±۰/۴۸b	۵/۱۳±۰/۴۸bc	۰/۱۸±۰/۰۳bc	۰/۱۸±۰/۰۳bc
TK	۴/۵۰±۰/۵۴ a	۴/۴۶±۰/۵۹ab	۴/۳۱±۰/۳۲b	۴/۲۵±۰/۳۴cd	۰/۲۶±۰/۰۴bc	۰/۲۴±۰/۰۴b
WPM	۳/۲۵±۰/۳۵ bc	۲/۴۲±۰/۴۲c	۴/۶۰±۰/۲۶b	۵/۶۹±۰/۷۷b	۰/۱۵±۰/۰۲b	۰/۱۰±۰/۰۲c

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌گر گروه‌بندی محیط کشت‌ها برای هر صفت بر اساس آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ می باشد.



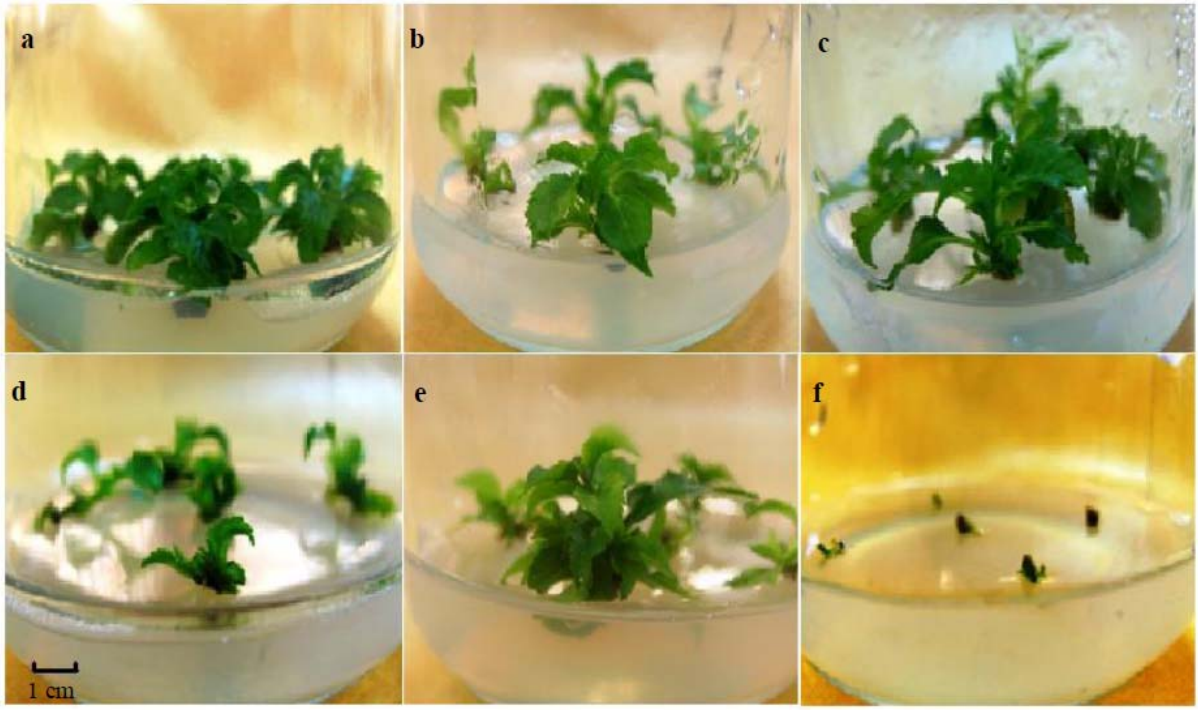
شکل ۱: ریزنمونه‌های رشد یافته در محیط کشت‌های مختلف: a) MS، b) GNH، c) mGNH، d) 1/2×MS، e) TK و f) WPM

نتایج آنالیز داده‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار بین کربوهیدرات‌های مورد آزمایش بود (جدول ۱). ریزنمونه‌های رشد یافته در محیط کشت MS حاوی منابع مختلف کربن واکنش‌های متفاوتی را با توجه به نوع کربوهیدرات مورد استفاده از خود نشان دادند (شکل ۲ و ۳). بیشترین تعداد نوساقه تولید شده مربوط به تیمار ۳۰ گرم در لیتر شکر معمولی (محصول شرکت کیمیا قند آذر) با میانگین ۳/۸۰±۰/۳۰ نوساقه به ازای هر ریزنمونه و کمترین تعداد نوساقه مربوط به تیمارهای ۲۰ و ۳۰ گرم در لیتر فروکتوز به ترتیب با میانگین ۲/۱۵±۰/۲۰ و ۲/۱۰±۰/۲۴ نوساقه به ازای هر ریزنمونه بود. از نظر طول نوساقه غلظت ۳۰ گرم در لیتر ساکارز با میانگین ۷/۵۶±۰/۶۳ میلی‌متر در مقایسه با سایر تیمارها عمل‌کرد بهتری داشت و کمترین طول نوساقه نیز در محیط کشت‌های تکمیل شده با هر دو غلظت فروکتوز مشاهده شد. در ریزنمونه‌هایی که تحت اعمال تیمار مانیتول قرار گرفته بودند عملا هیچگونه رشدی ملاحظه نشد که می‌تواند به دلیل عدم جذب مانیتول توسط گیاه و ایجاد پتانسیل اسمزی منفی‌تر در محیط کشت باشد.

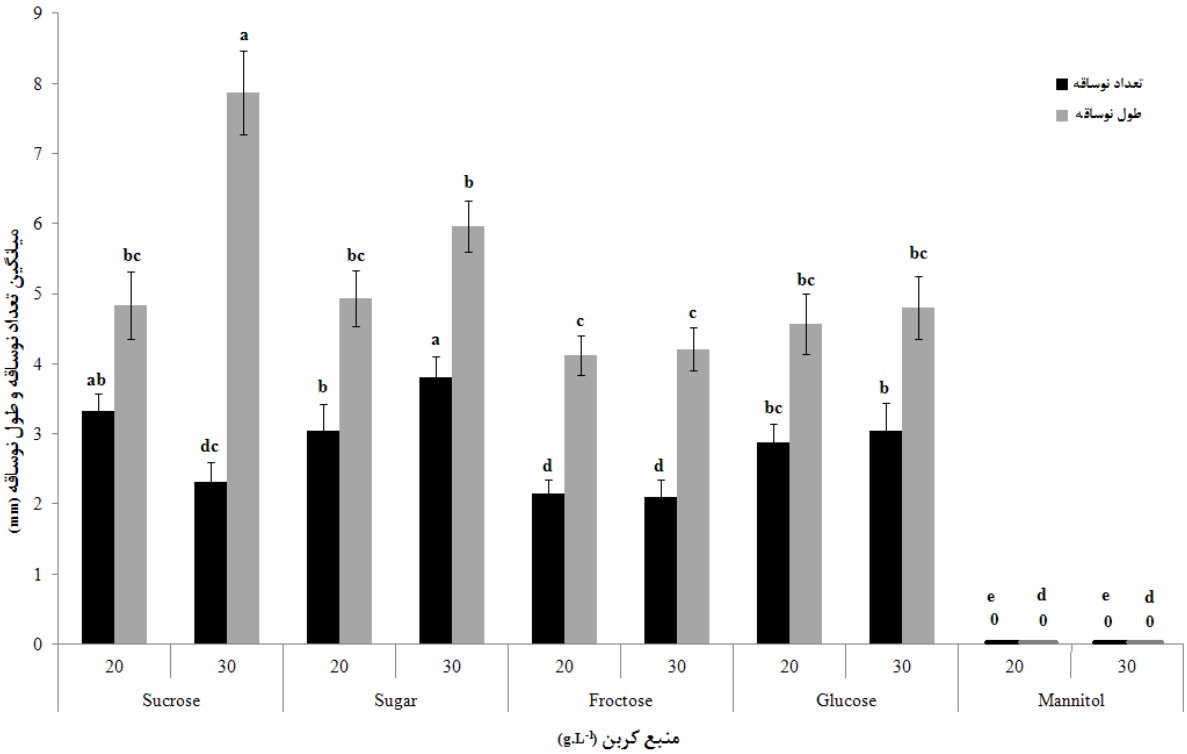
نتایج بررسی‌ها نشان دادند که طیف‌های نوری مورد آزمایش تاثیر معنی‌داری روی پرآوری داشت به‌طوری‌که بیشترین تعداد نوساقه در نور سفید و بیشترین طول نیز تحت تاثیر نور قرمز به دست آمد. اثر غلظت‌های مختلف BAP و IBA نیز تاثیر معنی‌داری در سطح ۱ درصد هم روی تعداد و هم روی طول نوساقه‌های تولید شده داشت (شکل ۴ و ۵). از نظر تعداد نوساقه اثر متقابل بین تیمارهای نوری اعمال شده و سطوح مختلف هورمون BAP بسیار معنی‌دار در حالی که اثر متقابل بین تیمارهای نوری و سطوح مختلف IBA غیر معنی‌دار بود. همچنین اثر متقابل بین دو هورمون BAP و IBA در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. اثر متقابل سه فاکتور مورد آزمایش (طیف نور، BAP و IBA) نیز تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول ۱). از نظر تعداد نوساقه عمل‌کرد سطوح مختلف BAP در نورهای مختلف متفاوت بود به‌طوری‌که در نور آبی با افزایش غلظت سیتوکنین بر تعداد نوساقه‌ها افزوده شد و حداکثر تعداد نوساقه‌ها در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP در حالی‌که در تیمار نور سفید بیشترین تعداد نوساقه در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر از این هورمون به دست آمد. همچنین در ریزنمونه‌هایی که تحت تاثیر نور قرمز رشد یافته بودند افزایش غلظت BAP تاثیری در افزایش تعداد نوساقه‌ها نداشت (شکل ۶).

در رابطه با طول نوساقه‌ها بین غلظت‌های مختلف هورمون‌های BAP و IBA تفاوت معنی‌داری وجود داشت ولی اثر متقابل آن‌ها اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. اثر متقابل طیف نور با BAP و طیف نور با IBA معنی‌دار ولی تاثیر متقابل این سه عامل (طیف نور، BAP و IBA) با هم غیرمعنی‌دار بود (جدول

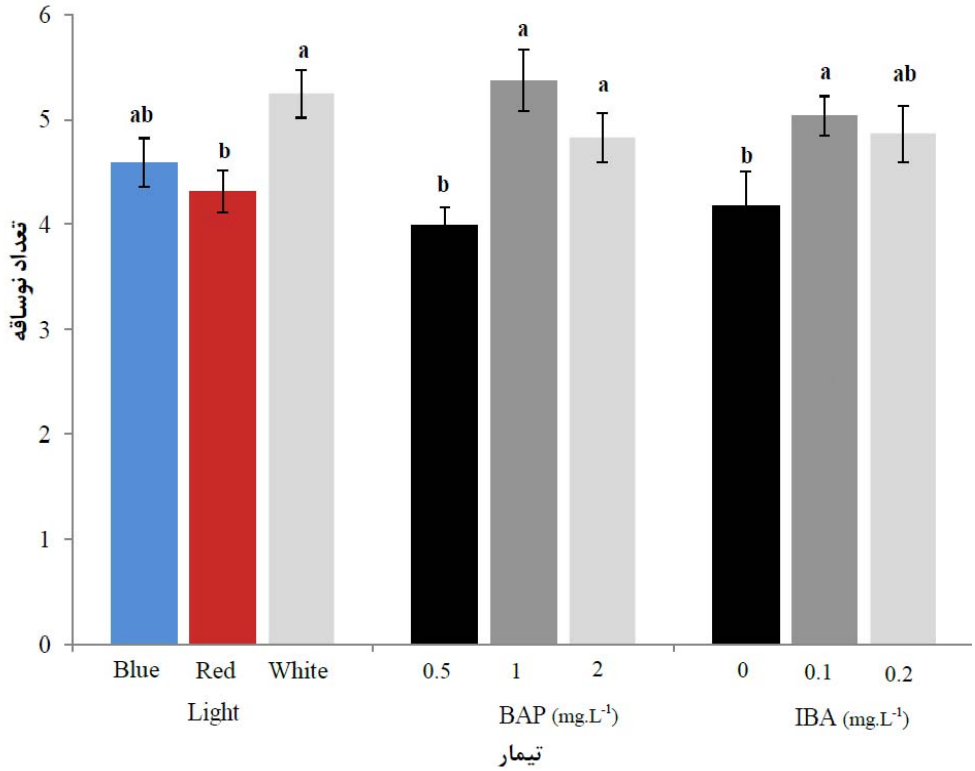
۱). چنانچه در شکل ۷ مشاهده می‌شود با افزایش سطح هورمون BAP طول نوساقه کاهش یافت. همچنین فعالیت هورمون IBA در نور قرمز در مقایسه با تیمارهای نوری آبی و سفید بیشتر بود (شکل ۸).



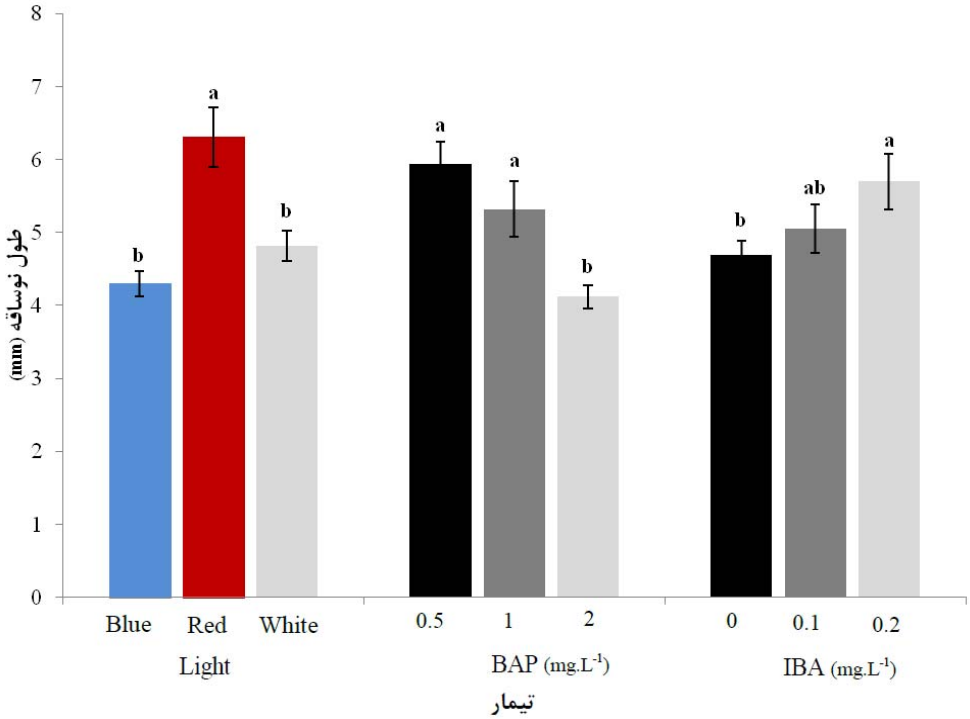
شکل ۲: نوساقه‌های تولید شده در محیط کشت MS حاوی منابع مختلف کربن: a حاوی ۳۰ گرم در لیتر شکر معمولی ، b حاوی ۲۰ گرم در لیتر شکر معمولی ، c حاوی ۳۰ گرم در لیتر فروکتوز، d حاوی ۳۰ گرم در لیتر فروکتوز، e حاوی ۳۰ گرم در لیتر گلوکز و f حاوی ۳۰ گرم در لیتر مانیتول.



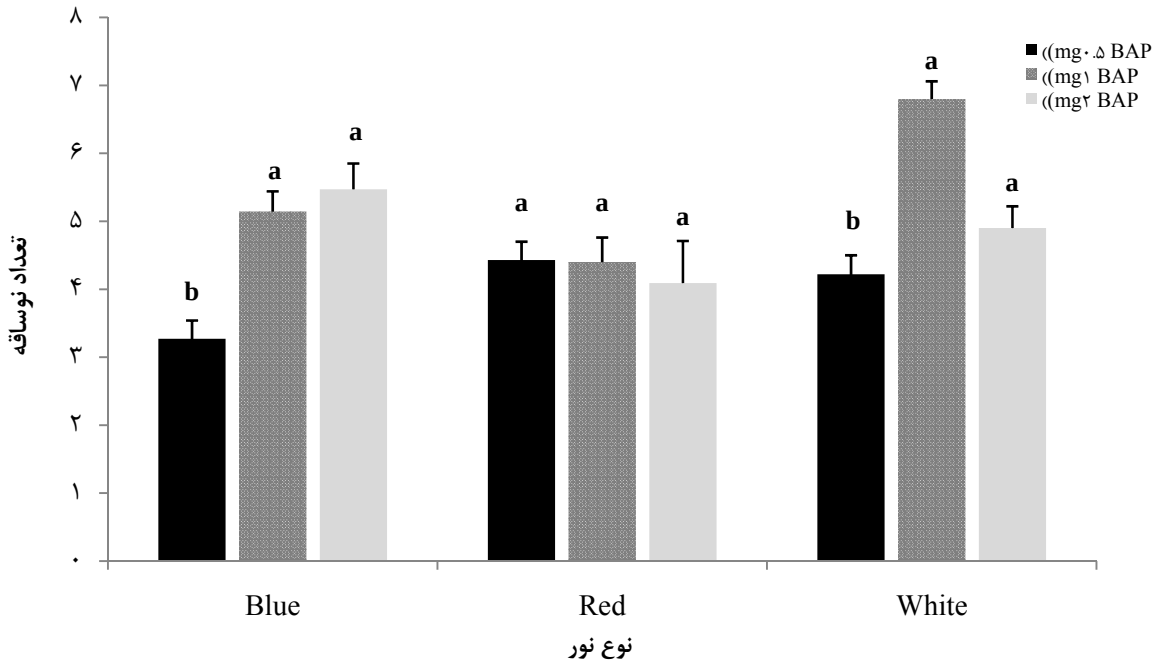
شکل ۳: میانگین تعداد و طول نوساقه تولید شده تحت تاثیر منابع مختلف کربن. حروف متفاوت در مقادیر هر صفت نشان‌گر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ می باشد (Error Bar) روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد).



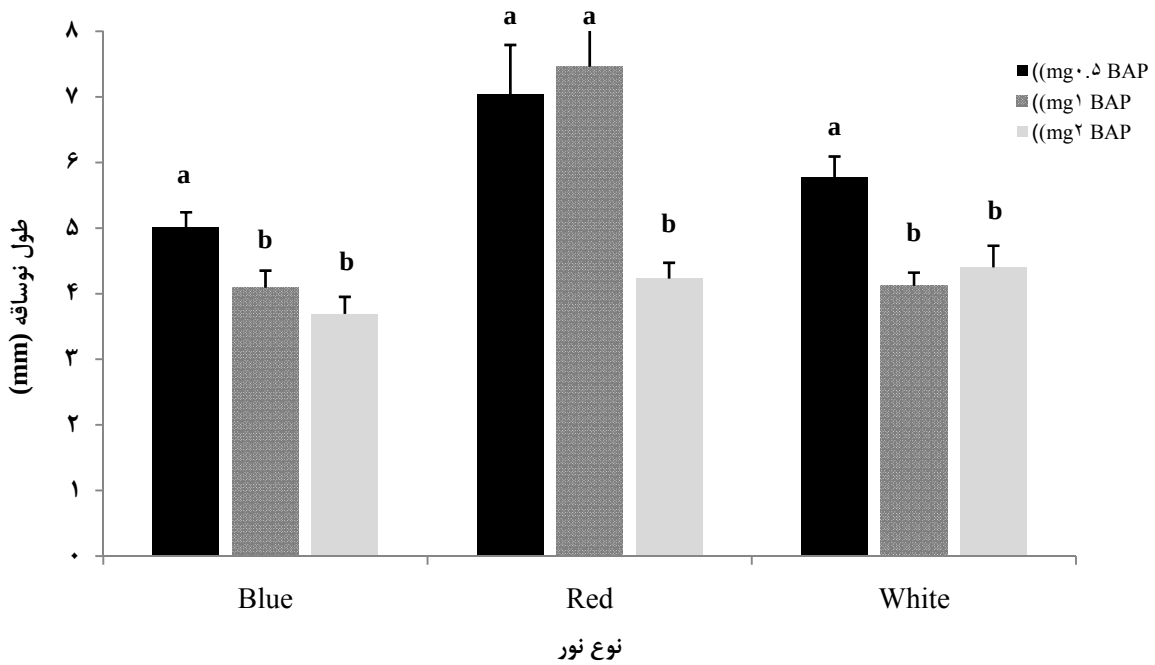
شکل ۴: عمل‌کرد تعداد نوساقه در طیف‌های مختلف نوری و غلظت‌های مستقل BAP و IBA. حروف متفاوت در بالای هر ستون نشانگر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ می باشد و Error Bar روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد.



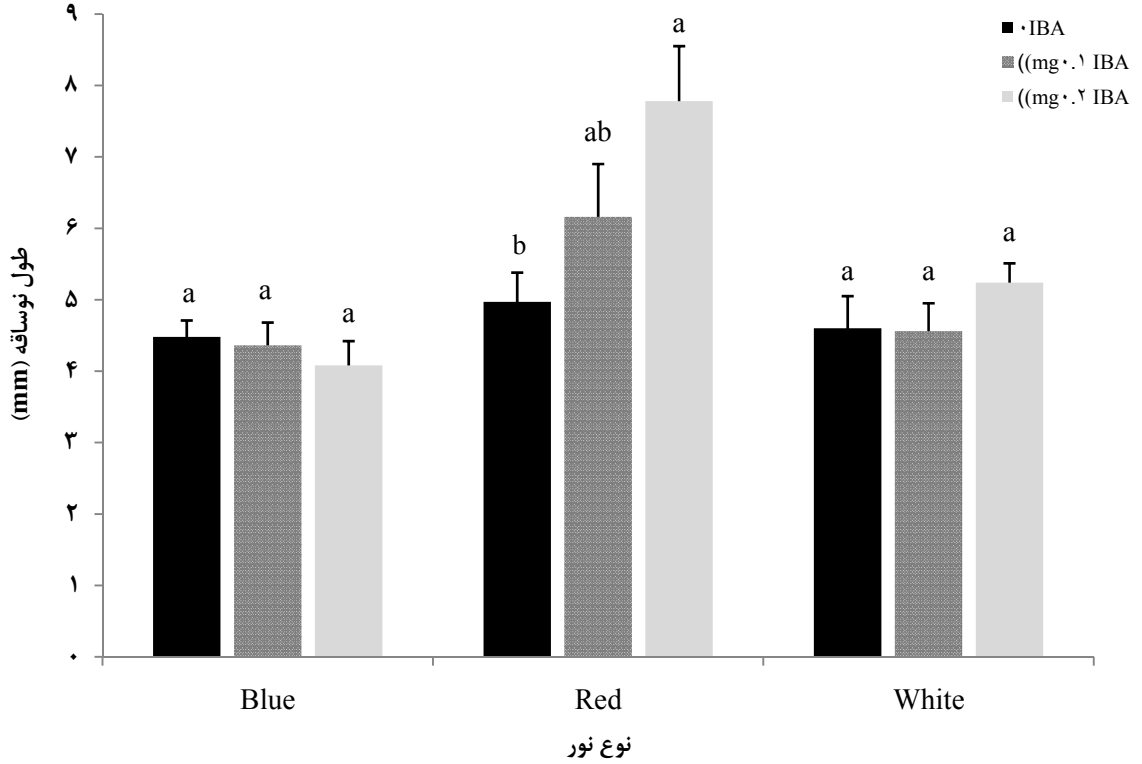
شکل ۵: عمل‌کرد طول نوساقه در طیف‌های مختلف نوری و غلظت‌های مستقل BAP و IBA. حروف متفاوت در بالای هر ستون نشانگر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ می باشد و Error Bar روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد.



شکل ۶: میانگین تعداد نوساقه تولید شده تحت تأثیر غلظت‌های مختلف BAP در هر یک از طیف‌های نوری مورد آزمایش. حروف بالای ستون‌ها نشانگر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ و Error Bar روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد.



شکل ۷: میانگین طول نوساقه‌ها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف BAP در هر یک از طیف‌های نوری مورد آزمایش. حروف بالای ستون‌ها نشانگر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P<۰/۰۵ در هرطیف نوری و Error Bar روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد.



شکل ۸: میانگین طول نوساقه‌ها تحت تاثیر غلظت‌های مختلف IBA در هر یک از طیف‌های نوری مورد آزمایش. حروف بالای ستون‌ها نشانگر گروه‌بندی بر اساس آزمون دانکن در سطح P< ۰/۰۵ و Error Bar روی نمودارها بیان‌گر خطای استاندارد (SE) می‌باشد.

نتایج نشان داد که در رابطه با ریشه‌زایی اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف IBA و همچنین NAA وجود ندارد ولی از نظر تعداد و طول ریشه‌ها اختلاف بین سطوح مختلف هر دو هورمون معنی‌دار مشاهده شد (جدول ۳). در شیوه اول بیشترین درصد ریشه‌زایی به میزان ۹۳/۷۵ درصد در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد در حالی‌که همین میزان ریشه‌زایی در غلظت ۳ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد (جدول ۴).

البته مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که تمامی سطوح مورد آزمایش هر دو هورمون در یک سطح قرار داشتند و اختلافی بین آن‌ها مشاهده نشد. بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۱/۵۲±۸/۰۰ ریشه به ازای هر ریزنمونه در ۶ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد. بالاترین میزان طول ریشه نیز متعلق به سطح ۶ میلی‌گرم در لیتر IBA با ۰/۸۹±۶/۰۱ سانتی‌متر بود (جدول ۴).

جدول ۳: میانگین مربعات صفات ریشه‌زایی در مطالعه تحریک ریشه‌زایی با IBA و NAA و با دو روش کاربرد آن‌ها: ۱) هورمون در محیط کشت و۲) تیمار ضربانی هورمون (Pulsing)

v.o.s	df	IBA			NAA		
		درصد ریشه‌زایی	تعداد	طول	درصد ریشه‌زایی	تعداد	طول
روش ۱	۵	۰/۲۷^{ns}	۰/۳۹**	۱۳/۱۸**	۰/۰۸^{ns}	۴/۸۶*	۸/۱۲**
خطا	۱۸	۰/۱۲	۰/۰۷	۲/۴۲	۰/۱۲	۱/۱۴	۰/۵۷
روش ۲	۴	۵۱۵/۶۲^{ns}	۱/۲۵**	۶۱/۶۶**	۰/۴۹^{ns}	۴/۸۶**	۸/۱۲**
خطا	۱۵	۵۶۲/۵۰	۰/۲۱	۱۵/۵۸	۰/۳۹	۱/۱۴	۰/۵۷

***: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح α=۰/۰۱، *: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح P< ۰/۰۵، ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار.*

جدول ۴: تاثیر غلظت‌های مختلف IBA و NAA روی ریشه‌زایی پایه رویشی Gisela 6 گیلاس

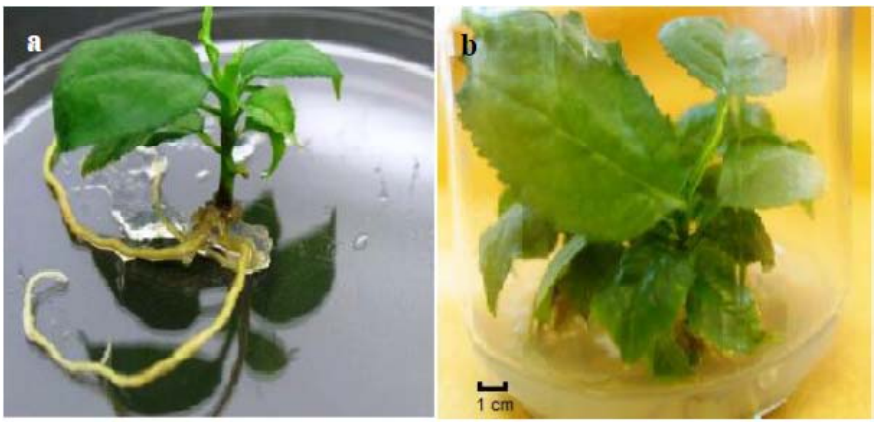
غلظت هورمون ($mg.L^{-1}$)	IBA			NAA		
	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)
۱	۵۰±۲۲/۸۲^{b}	۲/۳۷±۰/۶۵^{c}	۳/۹۱±۰/۵۳^{bc}	۹۳/۷۵±۶/۲۵^{a}	۲/۴۶±۰/۲۹^{c}	۳/۷۵±۰/۱۴^{d}
۲	۶۸/۷۵±۶/۲۵^{b}	۴/۰±۰/۵۵^{abc}	۵/۹۴±۰/۶۲^{a}	۸۱/۲۵±۱۱/۹۶^{a}	۳/۳۰±۰/۳۹^{c}	۴/۴۸±۰/۳۲^{bc}
۳	۹۳/۷۵±۶/۲۵^{a}	۶/۴۲±۰/۵۹^{a}	۴/۹۷±۰/۱۶^{ab}	۸۷/۵۰±۷/۲۱^{a}	۴/۵۸±۰/۸۲^{bc}	۴/۰۷±۰/۲۴^{cd}
۴	۷۵±۱۰/۲۰^{ab}	۲/۵۴±۰/۴۳^{bc}	۵/۲۷±۰/۲۲^{ab}	۷۵±۱۴/۴۳^{a}	۴/۵۵±۰/۸۰^{bc}	۵/۸۸±۰/۱۳^{a}
۵	۹۳/۷۵±۶/۲۵^{a}	۶/۱۴±۰/۵۴^{a}	۳/۴۷±۰/۰۶^{c}	۶۸/۷۵±۱۵/۷۲^{a}	۷/۰۰±۱/۱۳^{ab}	۴/۸۰±۰/۲۵^{b}
۶	۹۱/۶۶±۸/۳۳^{a}	۵/۲۲±۰/۸۶^{ab}	۶/۰۱±۰/۸۹^{a}	۸۷/۵۰±۱۵/۵۰^{a}	۸/۰۰±۱/۲۳^{a}	۳/۴۷±۰/۰۵^{d}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌گر گروه‌بندی غلظت‌های متفاوت هر هورمون برای هر صفت بر اساس آزمون دانکن در سطح $P < ۰/۰۵$ می‌باشد.

جدول ۵: تاثیر پالس ۱ گرم در لیتر هورمون‌های IBA و NAA روی ریشه‌زایی پایه رویشی Gisela 6

زمان	NAA			IBA		
	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)
3 s	۸۱/۲۵±۶/۳^{a}	۲/۶۲±۰/۶۲^{b}	۳/۲۱±۰/۴۲^{a}	۸۱/۲۵±۶/۳^{a}	۲/۴۶±۰/۳۳^{c}	۳/۲۳±۰/۳۲^{d}
5min	۷۵±۲۵^{a}	۵/۵±۱/۰۱^{b}	۲/۱۷±۰/۶۶^{b}	۷۵±۲۵^{a}	۶/۱۶±۰/۵۸^{b}	۵/۹۰±۰/۱۵^{b}
10min	۴۳/۷۵±۲۵/۸^{a}	۷/۳۷±۱/۴۵^{a}	۲/۹۰±۰/۱۹^{a}	۱۰۰^{a}	۶/۹۱±۰/۵۷^{b}	۴/۸۹±۰/۲۳^{c}
20min	۵۰±۲۸/۹^{a}	۱۰/۱۲±۱/۲۱^{a}	۱/۳۶±۰/۲۳^{c}	۱۰۰^{a}	۸/۶۰±۰/۶۲^{a}	۵/۵۴±۰/۲۰^{bc}

حروف متفاوت در هر ستون نشان‌گر گروه‌بندی مدت پالسینگ‌های متفاوت هر هورمون برای هر صفت بر اساس آزمون دانکن در سطح $P < ۰/۰۵$ می باشد.



شکل ۹: ریشه‌زایی درنوساقه‌ها در روش پالس با هورمون‌های IBA و NAA، a پالس با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و b پالس با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA.

در شیوه دوم تحریک ریشه‌زایی نیز که با استفاده از پالس ۱ گرم در لیتر (۱۰۰۰ ppm) هورمون‌های IBA و NAA انجام گرفت مشخص شد که از نظر درصد ریشه‌زایی اختلاف بین تیمارهای زمانی مختلف در هر دو هورمون غیرمعنی‌دار ولی از نظر تعداد و طول ریشه اختلاف، معنی‌دار بود (جدول ۳). بیشترین درصد ریشه‌زایی (۱۰۰ درصد) در تیمارهای زمانی ۱۰ و ۲۰ دقیقه با IBA و تیمار ۳۰ دقیقه NAA مشاهده گردید و بیشترین تعداد ریشه (۹/۱۴±۰/۸۲) و بلندترین طول ریشه (۸/۹۳±۰/۳۴) سانتی‌متر نیز به ترتیب در تیمارهای زمانی ۲۰ دقیقه NAA و ۳۰ دقیقه IBA به دست آمد (جدول ۵ و شکل ۹).

بحث

می‌توان گفت که کارایی محیط کشت وابسته به ژنوتیپ می‌باشد، به‌عنوان مثال در کشت درون شیشه بادام محیط AP برای استقرار کشت‌های رقم Nonpareil مناسب بوده در حالی‌که برای رقم Ne Plus Ultra محیط MS از کارایی بهتری برخوردار بود (۳۸).

ترکیبات معدنی اکثر محیط‌های کشت از نظر بیشتر ماکروالمنت‌ها دارای کمبود هستند که این کمبودها باعث رشد غیرطبیعی، شیشه‌ای شدن و تاثیرات نامطلوب می‌گردد (۳۹). علایم شدید کمبود عناصر در کشت‌های دون شیشه گیلاس زمانی که هر کدام از عناصر N، P و Ca از محیط کشت حذف شدند، مشاهده شد (۴۰). نتایج به دست آمده در این آزمایش بیانگر برتری محیط MS نسبت به سایر محیط‌های مورد آزمایش بود به‌طوری‌که در بررسی خصوصیات مهم رشدی، این محیط دارای عمل‌کرد بهتری بود.

با وجود اینکه نتایج حاصل بررسی تعداد نوساقه‌های تولید شده در محیط MS یافته‌های دانشور حسینی و همکاران (۲۷) را روی پایه Gisela 6 گیلاس تایید می‌کند ولی نتایج به دست آمده در رابطه با طول نوساقه‌ها (۷/۵۴±۰/۵۷ میلی‌متر) با گزارش‌های آن‌ها (۱/۷۰ سانتی‌متر) متفاوت است که این اختلاف می‌تواند به دلیل طول زمان انجام آزمایش باشد. آنان پس از ۳ بار واکشت به فاصلهٔ ۲۱ روز از هم اقدام به یادداشت‌برداری نمودند.

مهدویان و همکاران (۲۶) اعلام کردند که محیط MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP نسبت به محیط‌های DKW و QL بیشترین تاثیر را روی ریزازدیادی پایه هیبرید PHL-A داشت. ژانگ و همکاران (۴۱) اعلام کردند که استقرار و پرآوری Prunus virginiana محیط MS بهتر از WPM عمل کرد. هامات و گرنت (۱) نیز در استقرار ریزنمونه‌های گیلاس وحشی به نتیجه مشابهی دست یافته بودند.

برخی گزارش‌ها از تاثیر مثبت غلظت‌های مختلف عناصر معدنی تشکیل دهنده محیط کشت حکایت دارند. روزیچ و همکاران (۳۹) غلظت ماکروالمنت‌های محیط غذایی و میزان جذب آن‌ها و تاثیر آن را روی ریزازدیادی پایه رویشی Gisela 5 مورد بررسی قرار دادند. آنان در آزمایش‌های خود از MS، 2×MS، 1/2×MS و 1/4×MS همراه با ۴/۴ میکرومول BA، ۰/۵ میکرومول NAA و ۰/۳ میکرومول GA3 استفاده کردند. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که بیشترین مقدار رشد و توسعه نوساقه‌ها در پایه روشی Gisela 5 در محیط‌های MS و 2×MS به همراه بیشترین میزان جذب P و N مشاهده شد.

موسالیانون و همکاران (۴۲) بیان داشتند که حضور ساکارز در محیط کشت برای شروع رشد و مورفوژنز جوانه‌ها و برگ‌ها لازم و ضروری است که این برگ‌ها نیز متعاقبا برای فعالیت‌های فتوسنتزی ضروری خواهند بود. دوبرانسکی و سیلو (۴۳) اعلام کردند که در تکثیر درون شیشه، واکنش گونه‌های مختلف به کربوهیدرات‌های مختلف ممکن است به ژنوتیپ گیاه و بخشی نیز به محیط کشت رشد گونه‌ها بستگی داشته باشد.

نتایج بررسی‌ها نشان داد که بیشترین تعداد و طول نوساقه‌ها به ترتیب در محیط‌های حاوی غلظت بیشینه شکر معمولی و ساکارز مشاهده شد ولی با وجود این عمل‌کرد شکر معمولی در غلظت ۳۰ گرم در لیتر از نظر طول نوساقه قابل توجه بود. مطالعه مشابهی پیشتر در پایه Gisela 6 انجام نشده است ولی ناچوا و گرچوا (۴۴) در پرآوری پایه رویشی Gisela 5 از ساکارز و سوربیتول استفاده کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که بیشترین نرخ تکثیر (تعداد نوساقه به ازای هر ریزنمونه) از ترکیب ساکارز به علاوه سوربیتول با نسبت ۲ به ۱ (۲ قسمت ساکارز و ۱ قسمت سوربیتول) به دست آمد. بیشترین ترکیب طول نوساقه‌ها نیز (۱/۹ سانتی‌متر) در نتیجه استفاده استفاده از ۲۰ گرم در لیتر ساکارز به علاوه ۱۰ گرم در لیتر سوربیتول بود. ابوریا و همکاران (۳۴) اثر ۳ نوع منبع کربن شامل ساکارز، گلوکز و فروکتوز را روی پرآوری بادام تلخ مورد بررسی قرار دادند. آنان به این نتیجه رسیدند که گلوکز موثرترین منبع کربن برای تعداد نوساقه‌ها، وزن تر و طول آن‌ها می‌باشد. بعد از گلوکز به ترتیب ساکارز و فروکتوز روی ویژگی‌های رشدی ریزنمونه‌ها تاثیر داشتند. از سوی دیگر ساکارز نسبت به گلوکز و فروکتوز نوساقه‌های سالم‌تری تولید کرد. وذرال (۳۵) اعلام که در تکثیر گیلاس وحشی و هلو، گلوکز و ساکارز هر دو مفید هستند و از نظر نرخ تکثیر عمل‌کرد مشابهی دارند. بوزنا و چبرا (۴۵) تاثیر ساکارز، گلوکز، فروکتوز و سوربیتول را روی عملکرد کشت‌های درون شیشه گیلاس وحشی مورد مطالعه قرار دادند. نتایج به دست آمده توسط آنان نشان داد که ساکارز و گلوکز عمل‌کرد مشابهی داشتند و این دو منبع کربنی روی نرخ تکثیر تاثیر مثبتی داشتند. در حضور فروکتوز میزان تکثیر، پایین ولی همراه

با تولید نوساقه‌های بلند بود. این تحقیق نشان می‌دهد که انتخاب منبع کربن مناسب نقش مهمی را در تحریک رشد گیاه ایفا می‌کند. طبق اظهارات موسالیانون و همکاران (۴۲) تاثیر نوع و غلظت کربوهیدرات‌های مختلف روی رشد و نمو گیاهان درون شیشه بخصوص گیاهان چوبی هنوز جزو سوالاتی است که در تحقیقات ریزازدی بایستی به آن‌ها پاسخ داد.

مولئو و همکاران (۳۲) با مطالعه‌ای که روی هلو انجام دادند اعلام کردند که طیف نور روی تمایز جوانه‌ها و غالبیت انتهایی ساقه‌ها تاثیر می‌گذارد و بدین ترتیب باعث بوجود آمدن ساختارهای تمایز یافته و انشعابات ساقه‌ها می‌شود. آنان نشان دادند که نور آبی که به واسطه گیرنده نوری خاص خود عمل می‌کند، باعث افزایش تعداد نوساقه‌های تمایز یافته از مریستم انتهایی می‌گردد ولی غالبیت انتهایی را از بین نمی‌برد. نور قرمز غالبیت انتهایی را از بین می‌برد ولی تشکیل جوانه‌های جانبی را کاهش می‌دهد. آنان به این نتیجه رسیدند که واکنش‌های یاد شده ظاهرا وابسته به میزان کافی از فرم فعال فیتوکروم‌ها است و به میزان اثر گذاری فوتون نور بستگی ندارد. پیشتر مولئو و توماس (۴۶) نیز با مطالعه روی نور ممتد پیشنهاد کرده بودند که فتوکروم (دریافت کننده نور قرمز) و کریپتوکروم (دریافت کننده نور آبی) تاثیر متضاد و مخالف هم روی غالبیت انتهایی و تشکیل جوانه در پایه Mr.S 2/5 دارند.

در این آزمایش بیشترین تعداد نوساقه تحت تاثیر نور سفید به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و بیشترین طول نیز تحت تاثیر تیمار نور قرمز به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به دست آمد. بدون در نظر گرفتن نور سفید، در تیمار نور قرمز طول نوساقه‌ها افزایش یافته و از تعداد نوساقه‌های تولید شده کاسته می‌شود در حالی‌که در نور آبی عکس این حالت وجود دارد؛ چنین می‌توان گفت که نور قرمز باعث طویل شدن نوساقه‌ها می‌شود و برعکس، نور آبی از رشد و طویل شدن نوساقه‌ها جلوگیری می‌کند. نتایج به دست آمده با یافته‌های اپلگرن (۴۷) انطباق دارد. وی اعلام کرد نور قرمز باعث طویل شدن ساقه‌ها در شمعدانی گردید در حالی که نور آبی از طویل شدن ساقه‌ها جلوگیری کرد. همچنین در آزمایش‌های وی هیچگونه اختلاف معنی‌داری بین نور آبی و سفید از نظر ارتفاع نهایی نوساقه‌ها وجود نداشت و برگ‌هایی که تحت تاثیر نور آبی رشد یافته بودند به رنگ سبز تیره بود.

مولئو و مورینی (۳۱) با مطالعه روی نقش نور آبی و قرمز در غالبیت انتهایی و رشد ساقه‌های جانبی در پایه M9 سیب به این نتیجه رسیدند که تحت شرایط نور قرمز، غالبیت انتهایی کاهش یافت و میزان انشعابات افزایش پیدا کرد ولی تحت شرایط نور آبی دقیقا حالت عکس اتفاق افتاد؛ یعنی غالبیت انتهایی افزایش یافت و از میزان انشعابات کاسته شد. به نظر می‌رسد که الگو و دینامیک انشعابات ساقه‌ها تحت تاثیر مقادیر متفاوت نور قرمز و آبی قرار گیرد (۳۲). در این آزمایش بیشترین میزان رشد میان‌گره به همراه تعداد محدودی جوانه تحت شرایط نور قرمز به دست آمد که نشان می‌دهد نمو گیاه تحت تاثیر مقادیر مناسبی از فیتوکروم‌های فعال (Pfr) می‌باشد. اما الگوی رشدی مشاهده شده تحت تاثیر نور آبی و سفید می‌تواند به دلیل فعالیت کریپتوکروم باشد که بر عکس فیتوکروم عمل می‌کند. متاسفانه چون در این آزمایش تاثیر نور فروسرخ (FR) مورد بررسی قرار نگرفت امکان بحث بیشتر در خصوص تاثیر نور قرمز و گیرنده مربوط به آن (فیتوکروم) در این پایه وجود ندارد.

در برخی از مطالعات انجام گرفته در شرایط درون شیشه، هدف، برجسته کردن تاثیر متقابل بین تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و طیف نور است. به‌عنوان مثال BAP فقط در حضور نور توانست باعث ریزازدیادی در آلو کلون GF 655-2 گردد (۴۸). در این آزمایش در ریزنمونه‌هایی که تحت تیمار نور آبی رشد کرده‌اند با افزایش غلظت BAP بر تعداد نوساقه‌ها افزوده می‌شود ولی در تیمار نور قرمز افزایش BAP تاثیری روی تعداد نوساقه‌های تولید شده نداشت. در *Spiraea nipponica* تاثیر متقابل بین سیتوکنین‌ها و نور قرمز باعث کاهش نوساقه‌زایی گردید (۴۹) ولی زمانی که ترکیبی از نور قرمز به‌علاوه فراسرخ به همراه غلظت‌های کم سیتوکنین روی ریزنمونه‌ها اعمال می‌شد میزان نوساقه‌زایی افزایش می‌یافت (۵۰). از نظر طول نوساقه در تمامی تیمارهای نوری با افزایش غلظت BAP طول نوساقه‌ها کاهش یافت (شکل ۷) که می‌تواند به‌دلیل از بین رفتن غالبیت انتهایی توسط غلظت‌های بالای این هورمون باشد. فقط در نور قرمز و غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP افزایش کمی در طول نوساقه‌ها مشاهده شد. همچنین زمانی که ریزنمونه‌ها در معرض نور قرمز قرار داشتند با افزایش غلظت IBA طول نوساقه‌ها افزایش یافت و اختلاف بین سطوح مختلف این هورمون در نور قرمز بسیار معنی‌دار بود. در حالی که در ریزنمونه‌هایی که تحت تاثیر نور آبی و سفید رشد یافته بودند با افزایش سطوح IBA تغییر چندان محسوسی در طول نوساقه‌ها مشاهده نشد. می‌توان چنین

نتیجه گرفت که تاثیر نور قرمز بر فعالیت هورمون IBA مثبت بود.

سیتوکینین‌های مصنوعی مانند BA، فعالیت بیولوژیکی بسیار بالایی دارند و گران نیستند، لذا کاربرد وسیعی در کشت بافت دارند. سیتوکینین‌ها باعث تورم بافت‌ها، تحریک نمو جوانه‌های جانبی نابجا و تحریک تقسیم سلولی می‌شوند. در کشت بافت گیاهی، نقش سیتوکینین‌ها در تحریک نمو جوانه جانبی از طریق کاهش غالبیت انتهایی بسیار با اهمیت است (۵۱). از میان آن‌ها BA فعالترین، ارزانترین و تنها نوعی است که می‌تواند اتوکلاو شود. بنابر این BA بیشترین کاربرد را داراست، به‌خصوص در کارهای ریزازدیادی تجاری که هزینه و سادگی کار مورد توجه است (۵۲).

در تحقیق حاضر افزودن IBA در غلظت پایین به همراه غلظت بالای BAP باعث به‌وجود آمدن کالوس در قسمت پایه ریزنمونه‌ها گردید که متعاقبا نوساقه‌های نابجا از محل این کالوس‌ها تمایز یافته و رشد کردند.

در رابطه با هورمون BAP با توجه به شکل ۵ و ۶ بیشترین تعداد و طول نوساقه به ترتیب در غلظت‌های ۱ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از این هورمون به دست آمد. با افزایش غلظت BAP طول نوساقه‌ها به طور معنی‌داری کاهش یافت که چنین امری با توجه به رابطه معکوس بین تعداد نوساقه و طول آن (که در اکثر نتایج به دست آمده از این آزمایش به اثبات رسیده) طبیعی به نظر می‌رسد. در رابطه با تاثیر غلظت BAP روی تعداد و طول نوساقه‌ها گزارش‌های متفاوتی ارائه شده است؛ با وجود این‌که دانشور حسینی و همکاران (۲۷) غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BAP را روی تعداد و طول نوساقه‌های Gisela 6 موثر دانسته بودند، دمیرل و اولگر (۱۴) گزارش کردند که در تکثیر پایه رویشی Gisela 5 بیشترین تعداد نوساقه (۲/۹۳) و طول آن‌ها (۱/۶۸ سانتی‌متر) به ترتیب از ترکیب هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به علاوه ۰/۷۵ میلی گرم در لیتر BAP و ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به علاوه ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به دست آمد.

در این آزمایش بیشترین تعداد نوساقه در سطح ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA تولید شد. بلندترین نوساقه‌ها هم در سطح ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر این هورمون اکسینی به دست آمد. بر خلاف BAP با افزایش غلظت IBA بر طول نوساقه‌ها افزوده می‌شد. در تحقیقات آکباش و همکاران (۱۸) BA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر تعداد نوساقه‌های تولید شده به ازای هر ریزنمونه را به میزان ۱۶/۱۰ نوساقه افزایش داد. آن‌ها همچنین اعلام کردند که NAA نقش بازدارندگی را در تولید نوساقه داشت به‌طوری‌که وقتی NAA به محیط افزوده شد میزان نوساقه‌زایی کاهش یافت و در برخی موارد هیچگونه نوساقه‌زایی مشاهده نشد ولی ریزنمونه‌هایی که در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA کشت یافته بودند به‌طور متوسط ۱۱/۲۵ نوساقه به‌ازای هر ریزنمونه مشاهده شد. با این‌حال آنان اعلام کردند که زمانی که اکسین‌ها به محیط کشت اضافه شدند، تعداد نوساقه‌های تولید شده به طور چشم‌گیری کاهش یافت.

IAA و IBA در غلظت‌های مختلف به عنوان اکسین‌های معمول در ریشه‌زایی درون شیشه و برون شیشه اکثر گونه‌های Prunus مورد استفاده قرار می‌گیرند (۵۳). نوع و غلظت اکسین‌های مورد استفاده، درصد تشکیل ریشه را به میزان قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر قرار می‌دهد. ساباتینی و همکاران (۵۴) گزارش دادند که تمایز آغازین‌های ریشه از سلول‌های پارانشیم فلوئم بستگی به نوع و غلظت اکسین مورد استفاده دارد. علاوه‌برآن طبق گزارش ارایه شده توسط بلک اسلی و چالدوکوت (۵۵) سلول‌های تمایز یافته نیاز به نوع و غلظت مناسبی از اکسین دارند تا قادر باشند به علایم و سیگنال‌های ارگانوژنیک پاسخ دهند.

IBA به طور معمول برای تحریک آغازش ریشه هم در کشت‌های درون شیشه و هم در قلمه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵۶). نیسن و ساتر (۵۷) و هاوسمن (۵۸) نشان دادند که در محیط کشت بافت IAA سریعا تحت تجزیه نوری قرار می‌گیرد (۵۰ درصد در ۲۴ ساعت)؛ در حالی‌که تجزیه نوری IBA به آرامی صورت می‌گیرد (۱۰ درصد). حرکت کند IBA در داخل بافت و همچنین تخریب دیرهنگام آن می‌تواند دلیل اصلی کارایی بهتر این اکسین در مقایسه با IAA و NAA باشد.

دمیرال و اولگر (۱۴) در ریشه‌دار کردن نوساقه‌های حاصل از کشت درون شیشه پایه رویشی Gisela 5 از هورمون NAA در ۵ سطح شامل ۰، ۱، ۲، ۴، و ۶ میلی‌گرم در لیتر استفاده کردند و دریافتند که بیشترین درصد ریشه‌رایی (۹۲/۸۸ درصد) در غلظت ۶ میلی‌گرم در لیتر این هورمون به دست آمد.

مانسری و همکاران (۱۵) برای ریشه‌دار کردن نوساقه‌های گیلاس وحشی از اکسین‌های IAA، IBA و NAA هر کدام در ۴ سطح ۰/۵، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم استفاده کردند که IBA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر نسبت به اکسین‌های دیگر عمل‌کرد

بهتری داشت و باعث تولید بیشترین تعداد ریشه و بیشترین طول ریشه گردید. طبق اظهارات آن‌ها NAA و IAA به ترتیب در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر موجب متوقف شدن خروج ریشه‌ها و بنابراین کاهش میزان ریشه‌زایی گردید.

نتایج کلی نشان می‌دهند که عملکرد پالس IBA نسبت به NAA بخصوص در پارامترهایی مانند درصد ریزنمونه‌های ریشه‌دار شده و طول ریشه‌ها بهتر می‌باشد. اختلاف دو هورمون در مورد طول ریشه‌ها بیشتر ملموس بود؛ به طوریکه بلندترین ریشه در تیمارهای NAA برابر با کمترین میزان طول ریشه در تیمارهای IBA بود. در میان تیمارهای زمانی مربوط به پالس IBA می‌توان گفت که تیمار ۱۰ دقیقه به دلیل داشتن بیشترین میزان درصد ریشه‌زایی و همچنین عملکرد مناسب آن از نظر تعداد و طول ریشه‌ها نسبت به سایر تیمارها بهتر بود هر چند که در مورد تاثیر پالس ۳ ثانیه نیز جای بحث می‌باشد و نتایج مربوط به این تیمار از نظر درصد ریشه‌زایی (۸۱/۲۵ درصد) قابل مقایسه با تیمار زمانی ۱۰ دقیقه است. نتایج این آزمایش نشان داد که قرار دادن پایه ریزنمونه‌ها در غلظت‌های بالای اکسین به خاطر تاثیر زیاد آن روی ریزنمونه در مقایسه با استفاده مستقیم این هورمون‌ها در محیط کشت تاثیر بهتری روی میزان ریشه‌زایی داشته به‌طوری‌که پس از ۴ روز اولین ریشه‌ها ظاهر شدند. به هرحال برای حصول نتایج دقیق‌تر و رسیدن به زمان و همچنین غلظت اپتیمم هورمون نیاز به بررسی‌های بیشتری می‌باشد. ناملی و همکاران (۳۷) آزمایش مشابهی را روی ریزنمونه‌های بادام انجام دادند. آن‌ها نوساقه‌های رشد یافته در محیط کشت را جدا کرده و قسمت پایه نوساقه‌ها را در محلول ۱ گرم در لیتر (۱۰۰۰ ppm) هورمون IBA در زمان‌های مختلف شامل ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰ و ۵۰ ثانیه و ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰ و ۳۵ دقیقه قرار دادند و سپس به محیط کشت MS ۱/۲ بدون هورمون منتقل نمودند. کشت‌ها پس از ۴ روز نگه‌داری تحت شرایط تاریکی به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال یافتند. آنان پس از بررسی نتایج خود اعلام کردند که تیمارهای زمانی ۱۰، ۱۵، ۳۰ و ۳۵ دقیقه عمل‌کرد بهتری داشتند در حالی‌که در سایر تیمارهای زمانی هیچگونه ریشه‌زایی مشاهده نشد.

نیکبخت و همکاران (۵۹) در ریشه‌زایی ۲ رقم رز Damask (*Rosa damascene*) به نام‌های آذران و قمصر از پالس IBA در دو غلظت ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ ppm استفاده کردند. آنان پس از قرار دادن پایه ریزنمونه‌ها در محلول هورمونی، آن‌ها را به محیط مایع MS ۱/۲ انتقال دادند. نتایج آنان نشان داد که استفاده از محلول IBA ۲۰۰۰ ppm در مقایسه با غلظت ۱۰۰۰ ppm این هورمون بهتر است.

نتیجه گیری

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که: ۱) محیط MS با تولید بیشترین تعداد نوساقهٔ کل و سالم ، بلندترین طول نوساقه کل و سالم و همچنین بیشترین میزان وزن تر کل و وزن تر نوساقه‌های سالم مناسب‌ترین محیط کشت در بین سایر محیط‌های کشت مورد استفاده (TK، GNH، mGNH، WPM و MS ۱/۲) می‌باشد، ۲) منابع کربن با یکدیگر دارای تفاوت معنی‌دار بوده و بیشترین تعداد نوساقه در هر ریزنمونه و بلندترین آن‌ها به‌ترتیب در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر شکر معمولی و ساکارز مشاهده شد، ۳) نوع طیف نور بر میزان نرخ پرآوری و طول نوساقه موثر بوده و در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP در زیر نور سفید بیشترین تعداد نوساقه و در زیر نور قرمز بلندترین نوساقه‌ها تولید شدند و ۴) روش پالسینگ (غوطه‌ورسازی) پایه نوساقه‌ها در محلول ۱ گرم در لیتر IBA به مدت ۳۰ دقیقه با ۱۰۰ درصد موفقیت روش مناسبی برای تحریک ریشه‌زایی با تعداد ریشه‌های بیشتر، و تیمار به مدت ۲۰ دقیقه شیوه مناسب برای ایجاد ریشه‌های بلندتر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) انجام شد که بدین‌وسیله نویسندگان قدردانی خود را اعلام می‌نمایند. همچنین از راهنمایی‌های فنی و کارشناسی سرکار خانم دکتر مریم قنادنیا تقدیر و تشکر بعمل می آید.

منابع

1. Hammatt N, Grant NJ. Micropropagation of mature British wild cherry. Pl Cell Tissue Organ Cult. 1997; 47(2): 103–110.

2. Ďurkovič J. Rapid micropropagation of mature wild cherry. Biol Plantarum. 2006; 50(4): 733–736.

3. Janekova M. In vitro shoot growth from the buds of selected vegetatively propagated bird cherries (Cerasus avium). Zahradnictvi - UVTIZ. 1985; 12(3): 165–168.

4. Muna AS, Ahmad AK, Mahmoud K, Abdul-Rahman K. In vitro propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. Pl Cell Tissue Organ Cult. 1999; 59(3): 203–208.

5. Erbenová M, Paprštein F, Sedlák J. In vitro propagation of dwarfed rootstocks for sweet cherry. Acta Hort. 2001; 560: 477–480.

6. Snir I. A micropropagation system for sour cherry. Hort Sci. 1982; 19: 85-90.

7. Sedlák J, Paprštein F. In vitro shoot proliferation of sweet cherry cultivars Karešova and Rivan. Hort Sci. (Prague). 2008; 35(3): 95–98.

8. Rustaei M, Nazeri S, Ghadimzadeh M, Hemmaty S. Effect of Phloroglucinol, medium type and some component on in vitro proliferation of dwarf rootstock of Apple (Mallus domestica). Int J Agric Biol. 2009; 11: 193–196.

9. Franck TH, Kevers Cl, Gaspar Th. Protective enzymatic systems against activated oxygen species compared in normal and vitrified shoots of Prunus avium L. raised in vitro. Plant Growth Regul. 1995; 16 (3): 253-256.

10. Andreu P, Marin JA. In vitro culture establishment and multiplication of the prunus rootstock Adesoto 101 (P. insititia L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Sci Hortic-Amsterdam. 2005; 106(2): 258-267

11. Mansseri-Lamrioui A, Louerguioui A, Abousalim A. Effect of the medium culture on the micro cutting of material resulting from adult cuttings of wild cherry trees (Prunus avium L.) and of in vitro germination. Eur J Sci. Res. 2009; 25(2): 345-352.

12. Cerović R, Ružić D. Micropropagation of sour cherry (Prunus cerasus L.) cv. Šumadinka. Pl Cell Tissue Organ Cult. 1987; 9: 151-157.

13. Christov C, Koleva A. Stimulation of root initiation in hardwood sweet and sour cherry rootstocks (Prunus mahaleb L.). Bulg J Plant Physiol. 1995; 21(1): 68-72.

14. Demiral S, Ülger S. A Research on Propagation of Gisela 5 Cherry Rootstock by Tissue Culture. Akdeniz Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. 2008; 21(1): 117–121.

15. Mansseri-Lamrioui A, Louerguioui A, Bonaly J, Yakoub-Bougdal S, et al. Proliferation and rooting of wild cherry: The influence of cytokinin and auxin types and their concentration. Afr J Biotechnol. 2011; 10(43): 8613-8624.

16. Daneshvar Hosseini AR, Ganji Moghadam E, Kavari Khorasani S, Reza Bihamta M. Effects of growth regulators on micro propagation of some mahaleb dwarf genotypes (Prunus Mahaleb L.). Archives of Applied Science Research. 2011; 3(1): 118-125.

17. Fotopoulos S, Sotiropoulos T. E. In vitro rooting of PR 204/84 rootstock (Prunus persica × P. amygdalus) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. Agron Res. 2005; 3(1): 3-8.

18. Akbaş FA, Işıkalan Ç, Namlı S, Erol Ak B. Effect of plant growth regulators on in vitro shoot multiplication of Amygdalus communis L. cv. Yaltsinki. Afr J Biotechnol. 2009; 8(22): 6168-6174.

19. Rugini E. In vitro plant propagation of some olive (Olea europaea Sativa L.) cultivars with different root-ability, and medium development using analytical data from developing shoots and embryos. Scient Hort. 1984; 24: 123-134.

20. Grigoriadou K, Vasilakakis M, Eleftheriou EP. In vitro propagation of the Greek olive cultivar Chondrolia Chalkidikis. Pl Cell Tissue Organ Cult. 2002; 71(1): 47-54.

21. Ali A, Ahmad T, Akhtar Abbasi N, Hafiz IA. Effect of different media and growth regulators on in vitro shoot proliferation of olive cultivar 'Moraiolo'. Pak J Bot. 2009; 41(2): 783-795.

22. Nedelcheva S. Effect of inorganic components of the nutrient medium on in vitro propagation of pears. Genet Sel. 1986; 19: 404–406.

23. Wang Q. Shoot multiplication of pear in double-phase medium culture. Acta Hort. 1991; 289: 349–350.

24. Bell RL, Srinivasan C, Lomberk D. Effect of nutrient media on axillary shoot proliferationand preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. In Vitro Cell Dev Biol Plant. 2009; 45(6): 708-714.

25. Tatari varnosafaderani M, mousavi SA, bouzari N. [Micropropagation of some Clonal Rootstocks of Stone Fruits. Behnezhdi Nahal va Bazr]. 2012; 28(1): 53-66. Persian.

26. Mahdavian M, Bouzari N, Abdollahi H. Effects of media and plant growth regulators on micropropagation of a dwarfing cherry rootstock (PHL-A). Biharean Biologist. 2011; 5(2): 86-90.

27. Daneshvar Hossini AR, Ganji Moghadam E, Anahid S. Effects of media cultures and plant growth regulators in micro propagation of Gisela 6 rootstock. Ann Biol Res. 2010; 1(2): 135-141.

28. Van Staden J, Zazimalova E, George EF. Plant Growth Regulators II: Cytokinins, their Analogues and Antagonists. George E F, Hall M A, De Klerk G J. Plant propagation by tissue culture. volume one:

The Background. Netherlands: Ed Springer ; 2008; 205-226.

29. Rugini E, Jacoboni A, Luppino M. Role of basal shoot darkening and exogenous putrescine treatments on in vitro rooting and on endogenous polyamine changes in difficultto-root woody species. Sci Hortic. 1993; 53(1-2): 63-72.

30. Caboni E, Tonelli MG, Lauri P, Kevers C, et al. Biochemical aspects of almond microcuttings related to in vitro rooting ability. Biol Plant. 1997; 39(1): 91-97.

31. Muleo R, Morini S. Physiological dissection of blue and red light regulation of apical dominance and branching in M9 apple rootstock growing in vitro. J Plant Physiol. 2008; 165(17): 1838-1846.

32. Muleo R, Morini S, Casano S. Photoregulation of growth and branching of plum shoots: physiological action of two photosystems. In Vitro Cell Dev Biol Plant. 2001; 37(5): 609-617.

33. Ji A, Geng X, Zhang Y, Yang H, et al. Advances in somatic embryogenesis research of horticultural plants. AJPS. 2011; 2(6): 727-732.

34. Abou Rayya MS, Kassim NE, Ali EAM. Effect of different cytokinins concentrations and carbon sources on shoot proliferation of bitter almond nodal cuttings. J Am Sci. 2011; 7(1): 135-139.

35. Wetherell DF. Introduction to in vitro propagation. wayne, New Jersey, USA: Avery publishing group Inc; 1982.

36. Nezami AE, Garoosi GA, Haddad R, Babaei M. [Study of pectin, medium type and plant growth regulators (PGRs) on micropropagation of Gf677 under in vitro condition]. J Agr Bio. 2010; 2(1): 113-126. Persian.

37. Namli S, Isikalan Ç, Akbas F, et al. Improved in vitro rooting of almond (Amygdalus communis) cultivar 'Nonpareil'. POJ. 2011; 4(1):14-18.

38. Channuntapipat C, Wirthensohn M, Ramesh SA, Battle I, et al. Identification of incompatibility in genotypes of almond (Prunus dulcis) using specific primers based on the introns of the s-alleles. Plant Breed. 2003; 122(2): 164-168.

39. Ruzic D, Saric M, Cerovic R, Culafic L. Relationship between the concentration of macroelements, their uptake and multiplication of cherry rootstock Gisela 5 in vitro. Pl Cell Tissue Organ Cult. 2000; 63(1): 9-14.

40. Ružic D, Saric M, Culafic LJ. Uticaj pojedinih elemenata mineralne ishrane na fazu multiplikacije podloga za trešnju in vitro. Jugoslovensko vocarstvo. 1997; 31: 117–128.

41. Zhang Z, Dai WH, Cheng ZM, Walla JA. A shoot tip culturemicropropagation system for chokecherry. J Env Hort. 2000; 18(2): 234-237.

42. Mosaleeyanon K, Sha-um S, Kirdmanadee C. Enhanced growth and photosynthesis of rain tree (Samanea saman Merr.) plantlets in vitro under a CO2- enriched condition with decreased sucrose concentrations in the medium', Sci Hortic-Amsterdam. 2004; 103: 51-63.

43. Dobránszki J, Silva JAT. Micropropagation of apple: a review', Sci Hortic-Amsterdam. 2010; 28(4): 462-488.

44. Nacheva L, Gercheva P. Micropropagation of Gisela 5 (cherry dwarf rootstock): The effect of the type and the concentration of the carbohydrates in the nutrient medium. Acta Hort. 2009; 825: 261–268.

45. Bozena B, Szczebra J. Influence of different carbon sources on invertaes activity and growth of sour cherry (prunus cerasus L.) shoot culture. J Exp Bot. 1991; 42(7): 911-915.

46. Muleo R, Thomas B. Effects of light quality on shoot proliferation of Prunus cerasifera in vitro are the result of differential effects on budinduction and apical dominance. J Hortic Sci. 1997; 72(3): 483–491.

47. Appelgren M. Effects of light quality on stem elongation of Pelargonium in vitro. Sci Hort. 1991; 45: 345–351.

48. Baraldi R, Rossi F, Lercari B. In vitro shoot development of Prunus GF 655–2: interaction between light and benzyladenine. Physiol Plantarum. 1988; 74(3): 440-443.

49. Norton C.R, Norton M.E, Herrington E, Phillips D. Light quality and light pipes in the micropropagation of woody ornamental plants. In: von Hentig W-U & Gruber G (eds) International Symposium on Propagation of Ornamental Plants. Acta Hort;1988; 26: 413–416.

50. Herrington E, McPherson JC. Light quality growth promotion of Spiraea nipponica: the influence of a low photon fluence rate and transfer time to a higher fluence rate. Pl. Cell Tissue Organ Cult. 1993; 32(2): 161-167.

51. Taji, A, Moeini, A, Kahrizi, D. [Plant tissue culture], 1th Ed. Tehran: Basij-e-Daneshjouyi Org; 2003. Persian.

52. Bagheri, A R. Ziarat Nia S M. Hosseini, M. [Tree tissue culture], 1th Ed. Mashhad: Ferdosi Universi Press; 2004.Persian.

53. George EF, Sherrington PD. Plant propagation by tissue culture Exegetics Ltd. England: Basingstoke; 1984.

54. Sabatini S, Beis D, Wolkenfelt H, Murfett J, et al. An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. Cell. 1999; 99(5): 463-472.

55. Blakesley D, Chaldecott MA. The role of endogenous auxin in root initiation. Plant Growth Regul. 1997; 13(1): 77-84.

56. Pan R, Zhao Z. Synergistic effects of plant growth retardants and IBA on the formation of adventitious roots in hypocotyl cuttings of mung bean. Plant Growth Regul. 1994; 14(1): 15-19.

57. Nissen SJ, Sutter EG. Stability of IAA and IBA in nutrient medium of several tissue culture procedures. Hort Sci. 1990; 25(7): 800-802.

58. Hausman JF. Changes in peroxidase activity, auxin level and ethylene production during root formation by poplar shoots raised in vitro. Plant Growth Regul. 2003; 13(3): 263-268.

59. Nikbakht A, Kafi M, Mirmasoumi M, et al. Micropropagation of Damask Rose (Rosa damascena Mill.) cvs Azaran and Ghamsar. Int. J. Agri. Biol. 2005; 7(4): 535–538.

Journal of Cell & Tissue (JCT)
Summer 2013; 4(2): 169-185

Original Article

The Effect of Medium, Carbon Source, Light Spectrum and Style Treatment of Auxin on Shoot and Root Regeneration of Gisela 6 Root Stock

Zarei M.[1], Garoosi Gh. Ph.D.[2*], Nezami E. M.Sc.[3], Hosseini R. Ph.D.[2], Ahmadi J. Ph.D. [2]

1. M.Sc. Student, Agricultural Biotechnology Department, Imam Khomeini International University, Qazvin, IR Iran

2. Biotechnology Dept., Imam Khomeini International University, Qazvin, IR Iran

3. Technician (M.Sc.) of Agricultural Biotechnology Department., Imam Khomeini International University, Qazvin, IR Iran

* Email corresponding author: agaroosi90@yahoo.com

Received: 6 Oct. 2012 Accepted: 30 Apr. 2013

Abstract

Aim: In order to localize and optimize of micro propagation of Gisela 6, a valuable rootstock, the effects of medium, carbon sources, light and method of auxin application on shooting and rooting were investigated.

Material and methods: The effect of six media, five carbon sources and three light spectra plus different concentrations of BA and IBA on growth characters including shoot regeneration and their length, were studied using lateral buds as explants.. Percentage of rooting, number and length of roots were surveyed in two methods: 1) pulsing method using IBA and NAA at 1.0 $g.L^{-1}$ for different times; and 2) shoot planting on solid medium containing 6 concentrations of IBA and NAA independently.

Results: MS was the most suitable medium and the highest and longest shootlet numbers were produced on medium containing 30 gr. L^{-1} of market sugar and sucrose respectively. White and red light are more effective on shoot regeneration and shoot length respectively. The highest root induction was occurred in pulsing method in presence of 1 g. L^{-1} of IBA.

Conclusion: Optimized shoot propagation was observed on MS medium containing market sugar and BAP under white light, and optimized root induction was occurred in pulsing method in presence of IBA.

Keywords: Carbon source, Gisela 6, Light spectrum, Rooting, Shoot regeneration