Archive of SID
"نهال و بذر"
جلد ۱۷، شماره ۳، آذر ۱۳۸۰

تعیین مناسب‌ترین محیط کشت و شرایط رشد جهت ریزازدیادی پایه‌های رویشی GF677 (هیبرید هلو×بادام)*

Determination of the most Suitable Culture Medium and Growth Conditions for Micropropagation of GF677 (Hybrid of Almond × Peach) Rootstocks

کاظم کمالی، اسلام مجیدی و رضا ضرغامی

سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران - پژوهشکده کشاورزی

تاریخ دریافت: ۱۳۷۹/۳/۲۹

چکیده

کمالی، ک.، مجیدی، ا. و ضرغامی، ر. ۱۳۸۰. تعیین مناسب‌ترین محیط کشت و شرایط رشد جهت ریزازدیادی پایه‌های رویشی GF677 (هیبرید هلو × بادام). نهال و بذر ۱۷: ۲۴۳-۲۳۴.

در این تحقیق تکثیر پایه‌های GF677 از طریق کشت بافت مورد بررسی قرار گرفت، ابتدا مواد گیاهی از جوانه‌های جانبی و انتهایی در اوایل اردیبهشت ماه جمع آوری و سپس ریز نمونه‌های تهیه شده با استفاده از کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت ٦ دقیقه استریل شدند. محیط‌های کشت MS (Murashig and Skoog, 1962)، MS 1/2 و محیط کشت Knop تغییر یافته که در ماکروالمنت‌ها تغییراتی داده شده بود در این آزمایش‌ها مورد بررسی قرار گرفتند. بهترین شاخه‌زائی با استفاده از محیط کشت Knop تغییر یافته شامل ساکارز ۲٪، بنزیل آدنین یک میلی‌گرم در لیتر بدون نفتالین استیک اسید به دست آمد که در این محیط در هر لوله آزمایش حدود ۵ ریزقلمه تولید شد و در سطح ۱٪ بین غلظت‌های هورمونی اختلاف معنی‌دار وجود داشت. شرایط اتاق رشد شامل ١٦ ساعت دوره نوری و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۴ درجه سانتی‌گراد در شب بود. رطوبت نسبی ۴۵ درصد و شدت نور ۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس تنظیم شد. در مرحله ریشه‌زائی استفاده از محیط کشت LS (Linsmaier and Skoog, 1965) با ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید IBA، ۱/٦ میلی‌گرم در لیتر تیامین و ۷ روز دوره تاریکی بهترین نتیجه به دست آمد و ۸۰ درصد نمونه‌ها ریشه‌دار شدند سپس گیاهان ریشه‌دار شده به محیط‌های خاکی شامل ترکیب ۴۰٪ پیت و ٦۰٪ ماسه یا گلدان‌های توربی فشرده (Jiffy)

* قسمتی از پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد نگارنده اوّل که به گروه باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس ارائه شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

منتقل شد که با استفاده از گلدان‌های توربی فشرده نتایج بهتری به دست آمد. به طور کلی نتایج حاصله نشان داد که استفاده از محیط کشت Knop تغییر یافته برای ریزازدیادی هیبرید هلوxبادام بر سایر محیط‌های آزمایش شده مانند MS و MS1/2 در مرحله شاخه‌زایی برتری داشته ولی در مرحله ریشه‌زایی برای به دست آوردن نتایج بهتر باید از محیط کشت LS استفاده شود و نکته مهم این که برای ریشه‌زایی این پایه‌ها دوره تاریکی دارای اهمیت ویژه‌ای است.

واژه‌های کلیدی: هیبرید هلوxبادام (GF677)، پایه‌های رویشی، ریزازدیادی.

مقدمه

به طور کلی پایه‌های درختان میوه به دو روش جنسی و غیرجنسی تکثیر می‌شوند ولی با توجّه به این که در تکثیر جنسی تفرق صفات حاصل شده و نهال‌های حاصله از نظر خصوصیات ژنتیکی تغییر می‌یابند، از چند دهه پیش سعی بر این است تا از روش تکثیر غیر جنسی برای توسعه باغات میوه استفاده شود چون با استفاده از پایه‌های رویشی نهال‌های به دست آمده مشابه پایه مادری بوده و خصوصیات مطلوب و مورد نظر حفظ خواهد شد (خوشخوی و همکاران، ۱۳۶۸؛ منیعی، ۱۳۷۱).

تاکنون برای انواع درختان میوه پایه‌های رویشی مناسب شناخته شده است به طور مثال برای سیب انواع مالینگ‌ها، برای گیلاس Colt و F12 و برای بادام و هلو نیز پایه رویشی GF677 که هیبریدی از هلو و بادام می‌باشد به عنوان یکی از پایه‌های بسیار مناسب در دنیا شناخته شده و مورد استفاده قرار گرفته است (رسول‌زادگان ۱۳۷۰ و خوشخوی، ۱۳۷۰).

پایه GF677 دارای خصوصیات مطلوبی نظیر مقاومت به خشکی، خاک‌های آهکی، آفات و بیماری‌های گیاهی و سیستم ریشه‌بندی قوی می‌باشد و در حال حاضر سالانه ۷ تا ۸ میلیون اصله از این پایه‌ها به روش کشت بافت در اروپا تکثیر شده و برای احداث باغات مکانیزه مورد استفاده قرارمی‌گیرد (Tabachnick and Kester, 1977).

اوّلین تحقیقات کشت درون شیشه‌ای پایه GF677 توسط تباکینیک و کستر (Tabachnick and Kester, 1977) انجام شد و این دو دانشمند توانستند با تغییراتی در محیط Knop نمونه‌های گیاهی را کشت و شاخه‌زائی نمایند ولی در خصوص مراحل انتقال به خاک گیاهچه‌های تولید شده گزارشی داده نشد. بعد از این تحقیقات فازولو و همکاران (Fasolo *et al.*, 1987) اقدام به انجام آزمایش ریشه زائی گیاهچه‌های تولید شده از طریق انتقال به خاک نمودند و موفقیت‌هائی را به دست آورند. جونا و گری‌بایدو (Jona and Gribaudo, 1990) موفق به اندازه‌گیری مقدار اتیلن تولید شده توسط پایه GF677 در محیط کشت شدند.

داریون و همکاران (Dorion *et al.*, 1993) اثر درجه حرارت و میزان اکسیژن را روی شاخه‌های ایجاد شده GF677 در شرایط درون شیشه‌ای بررسی نمودند. طبق مدارک و بر اساس

www.SID.ir

Archive of SID

اطلاعات موجود تحقیقات دیگری در مورد این پایه‌ها توسط دای ماسی و تریو (Dimassi and Theriou, 1995) انجام شد. آن‌ها تأثیر محیط‌های مختلف کشت را برای ریشه‌زائی GF677 مورد تحقیق قرار دادند و نتیجه گرفتند ریشه‌زائی این پایه‌ها به غلظت و نوع محیط کشت استفاده شده بستگی دارد.

بادام یکی از اقلام صادراتی ایران بوده و در اکثر باغات بادام از نهال‌های بذری استفاده شده است، لذا درختان باغات از غیریکنواختی شدید در ژنوتیپ، صفات زراعی، میزان تولید و مرفولوژی برخوردار می‌باشند و امکان استفاده از روش‌های اصولی و مکانیزاسیون وجود ندارد (منیعی، ۱۳۷۱). به همین جهت در سال‌های اخیر اقداماتی در جهت تهیه نهال پیوندی به عمل آمده و بعد پایه هیبرید هلو بادام به ایران آورده شده و در ایستگاه تحقیقات باغبانی آذرشهر کشت گردید و تحقیقات در روی این پایه آغاز شد. در این راستا به منظور تعیین شرایط فیزیکی، شیمیائی و رشدی این پایه با روش ریزازدیادی، برای اوّلین بار در ایران این بررسی انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها

محیط کشت

در این بررسی از محیط‌های کشت متفاوت در مراحل مختلف کشت نمونه‌های گیاهی استفاده شد که شامل MS (Murashig and Skoog, 1962)، و Knop تغییر یافته (Tabachnick and Kester, 1977) بودند. در مرحله ریشه‌زائی نیز محیط‌های گوناگونی مورد استفاده قرار گرفت (جدول ۴).

pH کلیه محیط‌های کشت در مراحل مختلف رشد، ۵/۷ تنظیم شد همچنین آگار ۰/۷۵ درصد و ساکارز ۲ تا ۳ درصد نیز به محیط‌های کشت اضافه شد. کلیه محیط‌های کشت پس از تهیه، در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه در اتوکلاو استریل شدند. ظروف کشت در این تحقیق شامل لوله‌های آزمایش ۱۵۰×۲۵ میلی‌متر و شیشه‌های کوچک معمولی به اندازه ۱۰۰×۵۰ میلی‌متر بود.

مواد گیاهی و کشت

برای کاشت، جوانه‌های جانبی و انتهائی از شاخه‌های جوان و در حال رشد درختان مادری در فصل‌های مختلف پائیز، زمستان، بهار و تابستان برداشت شد. پس از برداشت، نمونه‌های گیاهی به وسیله فلاسک یخ از آذرشهر به محل‌های مورد آزمایش (تهران و کرج) انتقال یافت و جوانه‌های انتهائی و جانبی به اندازه‌های ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر از شاخه‌ها جدا شد. فلس‌های اطراف جوانه‌ها حذف گردیدند و ضدعفونی نمونه‌های گیاهی با استفاده از محلول ۰/۱ درصد کلرید جیوه به مدت ۶ دقیقه انجام شد برای جلوگیری از قهوه‌ای شدن نمونه‌های گیاهی ترکیبات آنتی اکسیدان مانند اسید سیتریک و اسید آسکوربک به محلول ضد عفونی اضافه شد. مواد گیاهی با آب مقطر استریل آبکشی شد تا مواد ضدعفونی‌کننده از روی آن شسته شود و نمونه‌ها آماده انتقال به محیط کشت شدند. واکشت نمونه‌ها هر ۲۰ روز یکبار انجام شد. کشت‌ها در شدت نور ۲۵۰۰ تا ۳۰۰۰ لوکس به مدت ۱۶ ساعت و دمای ۱±۲۴ درجه سانتی‌گراد رشد داده شدند. پس از ریشه‌زائی انتقال گیاهچه‌ها به خاک در

www.SID.ir

Archive of SID

گلدان‌های توربی فشرده تحت رطوبت نسبی ۹۰ درصد ، حرارت ۲۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت نور به شدت ۱۵۰۰ لوکس انجام شد و با شمارش تعداد گیاهچه‌های ریشه‌دارشده درصد ریشه‌زایی تعیین‌گردید.

نتایج و بحث

کشت ، شاخه‌زائی

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که بهترین زمان برداشت نمونه‌های گیاهی دراین تحقیق اواسط بهار می‌باشد و بهترین نتیجه برای ضدعفونی نمونه‌های گیاهی استفاده از ماده کلرید جیوه با غلظت ۰/۱ % و زمان ٦ دقیقه است.

کشت نمونه‌های گیاهی در محیط‌های MS و MS 1/2 باعث دراز شدن و گسترش برگ‌ها در روی محیط کشت گردیده و گیاهچه‌های حاصله در این محیط‌ها نهایتاً دچار کلروز شدیدی شدند. در نتیجه محیط کشت MS و MS 1/2 جهت شاخه‌زائی این نمونه‌ها مناسب شناخته نشد ولی با استفاده از محیط کشت Knop تغییر یافته نتایج بسیار مطلوبی حاصل گردید و گیاهچه‌های حاصله در این محیط به خوبی رشد نمودند.

بر اساس تجربیات به دست آمده مشخص گردید، با عنایت به این که محیط کشت Knop تغییر یافته فاقد ماده نیترات آمونیوم و کلریدکلسیم است، مواد گیاهی کمتر دچار زردی شده و پایداری گیاهچه‌ها افزایش یافت. در محیط‌هائی که میزان ازت و یون کلر افزایش یابد تعادل گیاهچه در جذب عناصر مختلف به هم خورده و چون گیاه ازت زیادی را جذب می‌کند برگ‌ها بیش از اندازه رشد نموده و در واقع ساقه واحد تشکیل نخواهد شد(Pierik, 1987). البته در محیط کشت Knop تغییر یافته غلظت مواد دیگر نیز نسبت به MS تغییر نموده که این تغییر نیر به سهم خود در رشد مطلوب گیاه تأثیر مثبت داشته است. در واقع بر اساس آزمایش‌های انجام شده می‌توان اذعان داشت که در بعضی مواقع لازم است مقدار برخی مواد را در محیط‌های کشت کاهش و برخی را حذف یا با مواد دیگر جایگزین نمود که گیاه رشد معمولی و عادی داشته باشد. هر چند ممکن است گیاهچه‌ها در این محیط‌ها کندتر رشد نمایند ولی حالت طبیعی گیاه حفظ خواهد شد.

مرحله شاخه‌زایی با استفاده از محیط کشت Knop تغییر یافته در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای مختلف هورمونی BAP در ٦ سطح (۰، ۰/۱، ۰/۴، ۰/۷، ۱ و ۲) و NAA در سه سطح (۰، ۰/۱ و ۰/۲) در ۱۰ تکرار انجام شد (جدول ۱). نتایج حاصل از تجزیه آماری در جدول ۲ نشان داده شده است. مشخص گردید که بهترین تیمار جهت شاخه‌زائی استفاده از هورمون BAP به غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۴/۳۰ شاخه در هر لوله آزمایش بود که در سطح ۱% اختلاف معنی‌داری با غلظت‌های دیگر هورمون داشت.

در خصوص نقش غلظت هورمون‌ها در میزان شاخه‌زایی بررسی آزمایش‌های به این گونه صورت گرفت که در برخی از تیمارهای مورد بررسی گیاهچه‌ها زرد شده و از بین رفتند و در برخی دیگر کاهش غلظت BA و کاهش NAA باعث رشد طولی گردید. در بررسی و پژوهش حاضر برای هر

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ - غلظت‌های هورمونی استفاده شده برای شاخه زائی GF677

Table 1. The hormone concentration used for proliferation

BA(mg1^{-1}) / NAA(mg1^{-1})		B1	B2	B3	B4	B5	B6
		0.0	0.1	0.4	0.7	1	2
A1	0.0	A1B1	A1B2	A1B3	A1B4	A1B5	A1B6
A2	0.1	A2B1	A3B2	A2B3	A2B4	A2B5	A2B6
A3	0.2	A3B1	A3B2	A3B4	A3B5	A3B6	

BA= Benzyle Adenine (BA) بنزیل آدنین

NAA= Naphtalen Acetic Acid (NAA) نفتالین استیک اسید

جدول ۲ - تجزیه واریانس آزمایش‌های مربوط به شاخه زایی GF677

Table 2. Analysis of variance for proliferation of GF677

S.O.V. منبع تغییرات		DF	SS	MS	F	Pr>F
Treatment	تیمار	17	50.625	2.977	29.06	0.0001
Error	خطا	162	16.601	0.102		
Total	کل	179	67.226			
c.v%=			28.45%			
A		2	13.790	6.895	67.28	0.0001
B		5	24.140	4.828	47.11	0.0001
AxB		10	12.694	1.269	12.39	0.0001

A= Effect of NAA — A = اثر هورمون NAA

B= Effect of BA — B = اثر هورمون A

AxB= Interaction — AxB = اثر متقابل دو هورمون NAAxBA

تیمار ۱۰ تکرار وجود داشت که شاخه‌های ایجاد شده در هر لوله آزمایش در هر یک از تیمارها جداگانه شمارش و یادداشت‌برداری شد و مشخص گردید که وقتی غلظت BA از یک حدی بیشتر شود، گیاه به دلیل جذب زیاد سیتوکینین از حالت طبیعی خارج شده و برگ‌ها لوله‌ای شده و نهایتاً گیاهچه‌های تولید شده قابل واکشت نخواهد بود. همچنین مشخص گردید وقتی غلظت BA کاهش یابد دیگر شاخه‌ای تولید نخواهد شد و فقط گیاه رشد طولی خواهد داشت و غلظت کم هورمون BA باعث افزایش غلبه انتهائی می‌شود (جدول ۳).

نتایج به دست آمده در مرحله شاخه‌زائی

www.SID.ir

Archive of SID

با نتایج تباکنیک وکستر (Tabachnick and Kester, 1977) مطابقت داشته با این تفاوت که آن‌ها از جوانه‌های خواب جهت کشت اولیه استفاده نمودند ولی در این آزمایش جوانه‌های خواب مناسب شناخته نشد و لازم بود مطابق نظر آنان به طور مصنوعی خواب جوانه‌ها شکسته و سپس کشت شود (Kester, 1970, Tabachnick and Kester, 1977). نتایج به دست آمده با نتایج روجینی و ورمانیز (Rugini and verma, 1982) که در مورد بادام به دست آورده بودند مطابقت دارد.

جونا و گری‌بایدو (Jona and Gribaudo, 1990) نیز از هورمون‌های دیگری برای شاخه‌زائی استفاده نمودند واز لحاظ نوع محیط کشت با آزمایش‌های دای ماسی (Dimassi, 1995) تفاوت داشت، چون وی از محیط کشت MS برای شاخه‌زائی استفاده کرده بود. به طور کلی بر اساس تحقیقات انجام شده مشخص شد که زمان استفاده از مواد گیاهی جهت ریزازدیادی بسیار حائز اهمیّت بوده و در واقع وقتی از شاخه‌های در حال رشد جوانه گیری و کشت شود میزان موفقیت بسیار افزایش خواهد یافت که دلیل آن این است که گیاه در این مرحله فعال بوده و بهتر با محیط کشت سازگاری خواهد داشت.

ریشه زایی

پس از رشد شاخه‌ها وقتی اندازه آن‌ها به ۲ تا ۳ سانتی‌متر رسید به محیط ریشه زائی منتقل گردیدند. نتایج به دست آمده از این مرحله نشان داد که کاهش عناصر پرمصرف به نصف، در محیط‌های گوناگون تأثیری در افزایش ریشه‌زائی نداشته است و استفاده از Phloroglucinol= PG به مقادیر ۱۶۲ و ۳۲۰ میلی‌گرم در لیتر در ریشه‌زایی ریز قلمه‌های GF677 موثر واقع نشد که دلیل آن این است که واکنش گونه‌های مختلف گیاهی به افزودن مواد مختلف کشت ممکن است اختلاف داشته باشد. یعنی مثلاً افزودن ماده PG ممکن است در ریشه‌زایی سیب موثر واقع شود ولی در ریشه‌زایی هیبرید هلو و بادام اثری نداشته باشد هر چند هر دو از خانواده روزاسه هستند و عدم تأثیر آن به فیزیولوژی و مکانیسم جذب گیاه بستگی دارد.

همچنین در اثر استفاده از محیط کشت BN که بورجین و نیتش (Burgin and Nitsch, 1967) آن را مناسب برای ریشه‌زائی بادام و پایه‌های آن تشخیص دادند، نتایج مطلوبی به دست نیامد. دلیل عدم موفقیت در این محیط کشت نیز مربوط به نوع گیاه می‌شود، چون استفاده از محیط کشت BN برای بادام موثر بوده ولی برای هلو × بادام نتیجه مطلوبی حاصل نگردید.

در آزمایش‌های ریشه‌زائی از آغشته کردن ریز قلمه‌ها به غلظت‌های ۵۰ میلی‌گرم در لیتر NAA ترکیب با ۵۰ میلی‌گرم IBA به مدت ۲۰ ثانیه نیز ۵۰ درصد ریزقلمه‌ها ریشه‌دار شدند. لازم به ذکر است پس از آغشته کردن ریز قلمه‌ها با هورمون، به محیط کشت LS بدون هورمون انتقال یافت.

نتایج حاصل از ریشه‌زایی بر اساس آزمون Z بررسی و مشخص نمود که بین تیمارهای F و H با بقیه تیمارها اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود دارد و همچنین در مقایسه دو تیمار F و H با یکدیگر مشخص گردید که بین این دو تیمار نیز

www.SID.ir

Archive of SID

تفاوت معنی‌دار در سطح ۵٪ وجود داشته و در اثر استفاده از محیط H میزان ریشه‌زایی افزایش یافت (جدول ۴).

بررسی روند ریشه‌زائی به این صورت بود که بر اساس منابع و اطلاعات موجود از محیط‌های مختلف برای ریشه‌زائی استفاده شد. بیست روز پس از انتقال گیاهچه‌ها به محیط‌های ریشه‌زایی مشخص گردید که در بسیاری از تیمارها گیاهچه‌ها کاملاً از بین رفته که دلایل از بین رفتن آن‌ها عبارتند از افزایش غلظت NAA، طولانی شدن دوره تاریکی و عدم سازگاری با محیط کشت. در این آزمایش‌ها دو نوع از این محیط‌ها جهت ریشه‌زائی مناسب تشخیص داده شد.

جدول ۳ـ مقایسه میانگین شاخه زائی در اثرات متقابل BA و NAA

Table 3. Interaction of BA and NAA on average of proliferation

Treatment تیمار	NAA و BA(mgl^{-1})	میانگین شاخه‌زایی Mean proliferation
A1B2	0 و 0	0.0 d
A1B2	0 و 0.1	0.0 d
A1B3	0 و 0.4	0.4711 cd
A1B4	0 و 0.7	3.2309 ab
A1B5	0 و 1	4.30 a
A1B6	0 و 2	4.79 a
A2B1	0.1 و 0	0.0 d
A2B2	0.1 و 0.1	0.0 d
A2B3	0.1 و 0.4	0.2162 d
A2B4	0.1 و 0.7	1.9062 b
A2B5	0.1 و 1	1.8734 b
A2B6	0.1 و 2	1.2164 c
A3B1	0.2 و 0	0.0 d
A3B2	0.2 و 0.1	0.0 d
A3B3	0.2 و 0.4	0.1312 d
A3B4	0.2 و 0.7	0.4267 cd
A3B5	0.2 و 1	0.1312 d
A3B6	0.2 و 2	0.1312 d

* میانگین‌های با حروف مختلف بر اساس روش دانکن دارای اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد است.

* Means followed by different letters are significantly different at 1% level, according to Duncan's Multple Range Test.

www.SID.ir

جدول ۴ـ محیط‌های مختلف استفاده شده برای ریشه‌زائی GF677

Table 4. Different media used for GF677 rooting

ردیف	محیط کشت استفاده شده	IBA میلی‌گرم درلیتر	مواد دیگر میلی‌گرم در لیتر	تغییرات دیگر داده شده	تعداد نمونه	تعداد گیاه ریشه‌دار شده	ریشه‌زایی درصد
A	Modiified	1	-	-	20	0	0
B	1.2 Knop	1	-	-	20	0	0
C	1.2 BN	1	330 PG	انتقال به محیط بدون هورمون پس از ۵ روز	20	0	0
D	BN	1	-	-	20	0	0
E	LS	100	-	آغشته کردن پائین گیاهچه‌ها به مدت ۲۵ثانیه انتقال به محیط بدون هورمون با ۴ روز تاریکی	20	0	0
F	LS	50	50 NAA	آغشته کردن پائین گیاهچه‌ها به مدت ۲۵ ثانیه در مخلوط هورمونی، انتقال به محیط بدون هورمون با ۴ روز تاریکی	20	10	50
G	1.2 BN	1	-	-	20	0	0
H	LS	0.3	-	تاریکی ۷ روز، تیامین به ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت	20	16	80
I	LS	1	162 PG	انتقال به محیط بدون هورمون پس از ۵ روز	20	0	0
J	LS	0.3	-	محیط کشت مایع، تاریکی ۷ روز، تیامین به ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر افزایش یافت	20	0	0

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج حاصل از ریشه‌زائی از نظر غلظت هورمون با آزمایش‌های تباکینیک و کستر (۱۹۷۷) مغایرت دارد. علت تفاوت در این است که اولاً او از جوانه‌های خواب جهت کشت استفاده نموده، ثانیاً در آزمایش‌های وی از تاریکی جهت تحریک ریشه‌زائی استفاده نشده است، چون اعمال داخلی دوره تاریکی باعث می‌شود یابد که IAA افزایش در تحریک ریشه‌زائی گیاه دارای اهمیّت زیادی است (Pierik, 1987).

انتقال به خاک و عادت‌دهی

وقتی ریشه‌ها در محیط کشت رشد کرد پس از ٦ هفته گیاهچه ها به خاک انتقال یافت. در این مرحله استفاده از خاک‌های فشرده توربی (Jiffy) نسبت به ترکیبات خاک شامل ۴۰ درصد پیت و ٦۰ درصد ماسه نتایج بهتری به دست آمد و مقدار آلودگی در بلوک‌های فشرده توربی بسیار کمتر از ترکیب خاک بود.

رطوبت محیط در اوایل انتقال به خاک حدود ۹۰ درصد بود که به تدریج از مقدار آن کاسته شد تا گیاهان به شرایط طبیعی سازگار شوند. در این مرحله سمپاشی گیاهان با قارچکش بنومیل با غلظت ۰/۱ درصد مقدار آلودگی‌های بعدی را کاهش داد. ضمناً تیمار نهال‌ها با هورمون جیبرلیک با اسید(GA3) غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر به صورت محلول‌پاشی روی شاخ و برگ گیاهچه‌ها تأثیر محسوسی در رشد طولی آن‌ها نداشت. در این مرحله برای جلوگیری از کمبود مواد غذائی آبیاری جیفی با MS موثر واقع شد که با نتایج فازلو و همکاران (Fasolo *et al.,* 1987) مطابقت دارد.

References

منابع مورد استفاده

خوشخوی، م.، شیبانی، ب.، روحانی، ا. و تفضلی، ع. ۱۳۸۰. اصول باغبانی، انتشارات دانشگاه شیراز.

منیعی، ع. ۱۳۷۱. مبانی علمی پروش درختان میوه. ناشر مؤلف.

رسول‌زادگان، ی. ۱۳۷۰. میوه‌کاری در مناطق معتدله (ترجمه). انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

خوشخوی، م. ۱۳۷۰. ازدیاد نباتات، مبانی و روش‌ها، جلد ۳ (ترجمه). انتشارات دانشگاه شیراز.

Bourgin, J.P., and Nitsch, J.P. 1967. Physiol.veg,9:377.

Dimassi, K., and Theriou, N. 1995. *In vitro* rooting of rootstock GF677 (*Prunus amygdalus* x *Prunus persica*) as influenced by mineral concentration of the nutrient medium and type of culture tube sealing material. Journal Horticultural Science 70: 201-213

Dorion, N., Regnard, J.L., Serpette, I., and Bigt, C. 1993. Effect of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and furhter development of *in vitro* shoot of peach(Armking) and peach x almond hybrid (GF677). Scientia Horticulture 57: 201-213.

Fasolo, F., Malavasi, F., and Ranieri, R. 1987. Preliminary investigation on *in vivo* rooting of

www.SID.ir

Archive of SID

micropropagation of GF677, Peach rootstock. Acta Horticulturae 212: 181-287.

Jona, R., and Gribaudo, I. 1990. Ethylene Production in tissue culture of Peach x almond, tomato, sweet cherry, and grape, Acta Horticulturae 280: 445-449.

Kester, D.E. 1970. Growth *in vitro* of tissue of almond hybrids and some other prunus. Horticulture. Science 5: 349.

Linsmaier, E.M., and Skoog, F. 1965. Organic growth factor requirements of tobacco tissue culture. Physiol. Plant 18: 100-127

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

Pierik, R.L.M. 1987. *In vitro* Culture of Higher Plants. Marthinus Nighof publishers, Netherlands.

Rathore, D.S., Mitra, S.K., and Bose, T.K. 1991. Temperate friuts. Horticulture and Allied Publishers.

Rugini, E., and Verma, D.C. 1982. Micropropagation of difficult to propagate almond (*Prunus amygdalus* cv. Batch) Plant Science Letters 28: 273-281.

Tabachnick, L., and Kester, D.E. 1977. Shoot culture for almond and almondxPeach hybrid clones *in vitro*. Hort Science 12: 545-547.

آدرس نگارندگان:
کاظم کمالی - سازمان پژوهش‌های علمی صنعتی ایران - مرکز یزد.
اسلام مجیدی و رضا ضرغامی - مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی، تهران، کرج.

www.SID.ir