

تأثیر گونه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر شاخه‌زایی و ریشه‌زایی سه گونه زالزالک (*Crataegus spp*)

نوریخس تیموری^۱، دانیال کهریزی^{۲*}، وحید عبدوسی^۳ و عبدالحمید پاپزن^۴

۱- گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۲- دانشیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، پست الکترونیک: dkahrizi@yahoo.com

۳- استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران

۴- دانشیار، گروه ترویج و آموزش کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه رازی، کرمانشاه

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۱/۰۹

چکیده

زالزالک (*Crataegus spp*) یکی از جنس‌های جنگلی مهم در ایران است. سازگاری بالایی به خشکی و سرما داشته و به‌عنوان پایه برای به، گلابی و سیب کارایی دارد. این تحقیق به‌منظور ارزیابی شاخه‌زایی و ریشه‌زایی سه گونه زالزالک به‌نام‌های *C. aronia*، *C. pseudohetrophylla* و *C. meyeri* انجام شد. برای این منظور از غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد و ریزنمونه تک‌گره حاوی جوانه جانبی استفاده شد. ریزنمونه در غلظت‌های مختلف BAP به‌علاوه NAA در محیط MS کشت شد. میانگین‌ها پس از ۶ هفته نشان داد که حداکثر تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP (۴/۳۳ شاخه)، بیشترین درصد ریزنمونه رشد کرده (۸۹/۶۷ درصد) در گونه *C. aronia* و بیشترین طول شاخه (۲۲/۶۷ میلی‌متر) در گونه *C. meyeri* و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به‌دست آمد. برای ریشه‌زایی از محیط کشت MS، MS/۱/۲ و پشم سنگ با ریزنمونه‌های پرآوری شده حاصل از پاجوش و شاخساره‌های پرآوری شده در شرایط درون شیشه‌ای استفاده شد. ریزنمونه‌ها در ۱۶ تیمار مختلف در محیط کشت MS، MS/۱/۲ و پشم سنگ کشت شد. در هیچ‌یک از گونه‌ها، تیمارها و محیط‌های کشت ریشه‌زایی مشاهده نشد. بیشترین طول شاخه در گونه *C. meyeri* و بیشترین تعداد شاخه در گونه *C. aronia* وجود داشت و هیچ‌یک از تیمارها، گونه‌ها و محیط‌های کشت ریشه‌زایی مناسبی نداشتند.

واژه‌های کلیدی: زالزالک، پرآوری، ریشه‌زایی، تنظیم‌کننده رشد گیاهی

مقدمه

زالزالک (*Crataegus spp.*) درختان یا درختچه‌هایی خزان‌کننده متعلق به خانواده Rosaceae است. جنس کراتاگوس دارای ۲۰۰ گونه در سراسر جهان می‌باشد (Donmez, 2004). این جنس در ایران دارای ۲۲ گونه و ۵ تیره است (Arjmandi et al., 2009). زالزالک

سازگاری بالایی به خشکی و سرما داشته و به‌عنوان پایه برای به، گلابی و سیب کاربرد داشته و از نظر خواص دارویی و ارزش صادراتی اهمیت دارد (Nas et al., 2012). زالزالک‌ها به‌طور عموم از طریق بذر تکثیر می‌شوند؛ ولی به‌دلیل داشتن میوه پارتنوکارپیک (تشکیل و رشد میوه بدون تلقیح تخمک‌ها) و یا گسترش آندوکارپ

درصد ریشه‌زایی با افزودن ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA توسط Al-Aubaidi (۲۰۱۱) به دست آمد. در *C. aronia* ریشه‌زایی کمتر از ۱۰ درصد توسط Mehmet و همکاران (2012) به دست آمد. در *C. aronia* پس از دو سال واکشت کردن گیاهچه‌ها ریشه‌زایی حاصل شد (Nas *et al.*, 2012). بیشترین درصد ریشه‌زایی در *C. pseudoheterophylla* Pojark در محیط MS ۱/۲ با یک هفته قرارگیری در تاریکی در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۴۰ میلی‌گرم در لیتر phloroglucinol (PG) وجود داشت (Ahmadloo *et al.*, 2014).

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه شرکت ایده‌سازان زیستی زاگرس واقع در مرکز رشد واحدهای فناوری دانشگاه رازی از سال ۹۲ تا ۹۴ انجام شد. برای تهیه ریزنمونه، شاخه گونه‌های *C. aronia*، *C. pseudoheterophylla* و *C. meyeri* از کوه‌های شهرستان صحنه استان کرمانشاه جمع‌آوری و به منظور حذف آلودگی‌های سطحی به مدت ۳۰ دقیقه در جریان آب شهری شسته شد و بعد به مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد قرار داده و دو بار با آب دی‌یونیزه سترون شستشو شد. ریزنمونه‌های تک جوانه‌ای در محلول هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۲۰ دقیقه و سه بار شستشو با آب دی‌یونیزه شده سترون و قارچ‌کش بنومیل (۲ در هزار) به مدت ۲ ساعت و سه بار شستشو با آب دی‌یونیزه شده سترون در زیر لامینار ایرفلو غوطه‌ور شدند. انتهای قهوه‌ای قاعده ریزنمونه و زوائد جانبی شاخه حذف و کشت در محیط MS حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۸ درصد آگار با تنظیم‌کننده رشد BAP در غلظت‌های ۰، ۱، ۲، ۳ و ۴ میلی‌گرم در لیتر همراه با ۳ غلظت ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر NAA انجام شد. کشت‌ها در اتاقک رشد در شرایط ۱۶ ساعت نور فلورسنت سرد و ۸ ساعت تاریکی در دمای 25 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری و دو هفته یکبار نمونه‌ها زیرکشت -

بدون لقاح بذر واقعی، جوانه‌زنی بذر آنها مشکل است (Bujarska-Borkowska, 2002). بیشتر بذرهای جنس زالزالک دارای خواب دوگانه بوده یعنی علاوه بر وقوع خواب فیزیکی (مقاومت مکانیکی پوسته) دارای خواب جنین نیز می‌باشند و جوانه‌زنی آنها ممکن است ۳-۲ سال زمان نیاز داشته باشد. بذر زالزالک از نظر رفتار انبارمانی ارتودکس می‌باشد (ISTA, 2008).

استفاده از روش‌های مرسوم باغبانی با مشکلاتی از قبیل کند جوانه‌زدن و درصد پایین جوانه‌زدن بذرها و ریشه‌زایی بسیار کم در قلمه‌ها همراه می‌باشد (Maharik 2009). هدف این پژوهش رسیدن به دستورالعمل مناسب برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی این گونه‌ها، در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای می‌باشد. مطالعات متعددی در رابطه با ریزازدیادی جنس *Crataegus* انجام شده است. در *C. azarolus* بیشترین میزان پرآوری ۴ هفته پس از کشت در محیط MS (Murashige and Skoog, 1962) تهیه شده با ۰/۵ میکرومول بر لیتر IBA + ۵ میکرومول بر لیتر Benzyladenin-6 (BA) به دست آمد (Marwan *et al.*, 2008). در محیط کشت Lepoivre (LP) با غلظت ۱/۸ میکرومول بر لیتر IBA و ۰/۴ میلی‌گرم در لیتر benzylaminopurine (BAP) بیشترین میزان شاخساره جانبی در *C. azarolus* توسط Caboni و همکاران (2010) به دست آمد. در ۴ نوع محیط کشت MS، Woody plant medium (WPM)، Driver and kuniyuki walnut medium (DKW) و Nas and read (NRM) medium شامل ترکیبات ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین میزان تولید شاخه در محیط MS در سرشاخه‌های *Crataegus aronia* توسط Nas و همکاران (2012) گزارش شده است. درصد ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های *Crataegus sp* ناچیز بوده و به نظر می‌رسد که در ریزازدیادی زالزالک از درختان رشد کرده بدون پیش‌تیمار محدودیت وجود دارد (Gokbunar, 2007). در *Crataegus japon L.* بیشترین

ریز نمونه‌ها در شرایط نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی نگهداری شد. آزمایش اول به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و آزمایش دوم در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار حاوی ۶ ریز نمونه اجرا شد. مقایسه میانگین داده‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱٪ انجام شد و برای انجام تجزیه آماری از نرم افزار SAS استفاده شد.

نتایج

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص‌های رشد درون-شیشه‌ای سه گونه زانزالک (آزمایش اول) تمامی صفات اندازه‌گیری شده تحت تأثیر تیمار غلظت تنظیم‌کننده رشد و گونه قرار گرفته و اختلاف معنی‌داری را در تجزیه واریانس نشان دادند (جدول ۱). حداکثر تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP در گونه *C. aronia* به تعداد ۴/۳۳ شاخه به دست آمد (شکل ۱). بیشترین درصد ریزنمونه رشد کرده به میزان ۸۹/۶۷ درصد) در گونه *C. aronia* وجود داشت، در ۲ گونه *C. aronia* و *C. meyeri* با افزایش غلظت BAP درصد ریزنمونه رشد یافته افزایش و در هر ۳ گونه با افزایش غلظت NAA درصد ریزنمونه رشد کرده کاهش یافت (جدول ۲). بیشترین تعداد شاخساره به میزان ۴ شاخساره در گونه *C. aronia* مشاهده شد، در ۲ گونه *C. aronia* و *C. meyeri* با افزایش غلظت BAP تعداد شاخساره افزایش یافت (جدول ۳). بین گونه‌های مختلف و تیمار-های مختلف هورمونی از نظر طول شاخساره به وجود آمده در سطح ۱ درصد اثرات معنی‌داری وجود داشت (جدول ۱). در هر ۳ گونه مناسبترین غلظت تنظیم‌کننده رشد به منظور افزایش طول شاخساره تیمار هورمونی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود و بیشترین طول شاخساره به میزان ۲۲/۶۷ میلی‌متر در گونه *C. meyeri* در همین تیمار هورمونی بود (جدول ۴). در مجموع از نظر شاخص‌های رشد اندازه‌گیری شده گونه *C.*

برده شدند. در آزمایش اول پس از ۶ هفته طول شاخساره، درصد ریزنمونه‌هایی که تولید شاخساره کردند (درصد ریزنمونه‌های رشد کرده) و تعداد شاخساره بررسی شد. در آزمایش دوم به منظور ریشه‌زایی، ریزنمونه شاخساره‌های پرآوری شده حاصل از جوانه و پاجوش به طول ۱/۵ تا ۲/۵ سانتی‌متر بر روی محیط کشت MS و ۱/۲MS حاوی ۰/۸ درصد آگار، pH= ۵/۷ و ۳ درصد ساکارز بررسی شد. در روش طولانی مدت ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، به مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق و ۲ غلظت ۰/۱ mg/l IBA و ۱ mg/l IBA بعلاوه ۰/۱ mg/l BAP در دو محیط کشت MS و ۱/۲MS نگهداری شد. سپس ریزنمونه‌ها روی همان محیط کشت به دوره نوری ۸ ساعت تاریکی و ۱۶ ساعت روشنایی منتقل و به مدت ۲ ماه بدون واکشت نگهداری شدند. در تیمار کوتاه مدت ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، به مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق و ۳ غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ mg/l IBA در دو محیط کشت MS و ۱/۲MS نگهداری شدند. پس از ۱۰ روز ریزنمونه‌ها به محیط فاقد تنظیم‌کننده رشد انتقال و در شرایط نوری (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) به مدت ۲ ماه بدون واکشت نگهداری شدند. همین‌طور ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، در ۳ غلظت ۱، ۲ و ۳ mg/l IAA (پس از فیلتر کردن) و ۳ غلظت ۵، ۱۰ و ۱۵ mg/l IBA به مدت ۲ ماه بدون واکشت در شرایط نوری ۱۶/۸ نگهداری و پس از ۲ ماه به محیط بدون هورمون منتقل شدند. همچنین ریزنمونه‌ها با ۳ تکرار و هر تکرار ۶ ریزنمونه، در ۳ غلظت ۲۰، ۳۰ و ۴۰ mg/l PG بعلاوه ۱ mg/l IBA به مدت یک هفته در تاریکی مطلق نگهداری و بعد به شرایط نوری ۱۶/۸ منتقل شد. به علاوه اینکه برای ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها از ۲ سویه باکتری آگروباکتریوم رایزوترنز ATCC , GMI9534 با استفاده از پشم سنگ و تزریق باکتری به بستر پشم سنگ، تزریق باکتری و عصاره باکتری (پس از استریل با فیلتر) به محیط کشت MS و ۱/۲ MS استفاده شد، سپس

و NAA طول شاخساره کاهش یافته و با افزایش غلظت BAP و کاهش غلظت NAA تعداد شاخساره افزایش یافت. برای هر ۳ گونه زالزالک غلظت بهینه تنظیم‌کننده رشد ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بود.

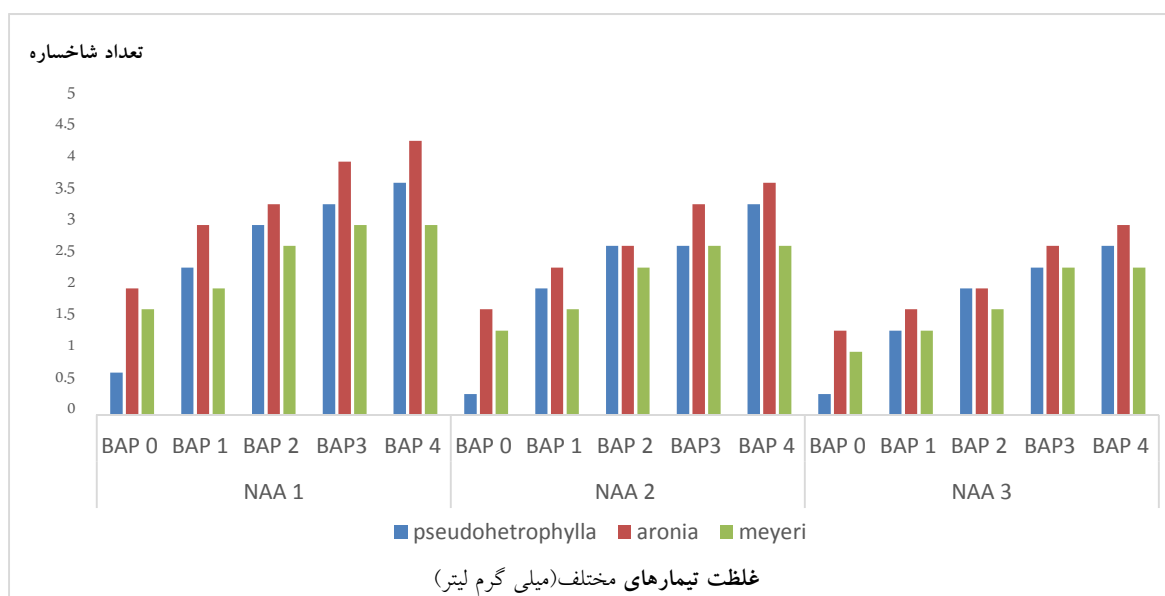
meyeri نسبت به دو گونه دیگر برتری داشت. بهترین غلظت BAP برای رشد شاخساره غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. به طوری که با افزایش غلظت NAA تعداد شاخساره کاهش و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA غلظت بهینه برای افزایش طول شاخساره بود. با افزایش غلظت BAP

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تنظیم‌کننده رشد بر روی صفات مختلف سه گونه زالزالک (*C. aronia*)

C.pseudohetrophylla, *C.meyeri*)

طول شاخساره	تعداد شاخساره	درصد ریز نمونه رشد کرده	DF	منابع تغییر
۷۷۲/۳۵ **	۵/۲۵ **	۲۹۷۷۸/۵۵ **	۲	گونه‌های مختلف زالزالک (A)
۱۱۱/۰۴ **	۶/۵۶ **	۶۱۳/۲۴ **	۱۴	غلظت‌های مختلف تیمارها (B)
۱۴/۰۶ ^{ns}	۰/۲۸ ^{ns}	۶۲/۴۳ ^{ns}	۲۸	اثر متقابل A × B
۱۲/۹۱	۰/۶۴	۲۰۷/۵۵	۹۰	خطای آزمایش
۲۷/۷۱	۱۴/۲۹	۲۰/۸۱	-	ضریب تغییرات (%)

*، ** و ^{ns}: به ترتیب بی‌معنی و معنی‌دار در سطح ۵٪ و ۱٪



شکل ۱- اثر غلظت تیمارهای مختلف بر تعداد شاخساره زالزالک

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر تنظیم کننده رشد بر درصد ریزنمونه رشد یافته سه گونه زالزالک

(*C.aronia*, *C.pseudohetrophylla*, *C.meyeri*)

<i>C.meyeri</i>	<i>C.aronia</i>	<i>C.pseudohetrophylla</i>	گونه	تیمار
۳۹/۶۷ bcd	۷۰/۰ bcd	۲۱/۶۷ cde		BAP _۱ +NAA _۱
۴۳/۶۷ abc	۸۱/۳۴ ab	۳۶/۸۳ a		BAP _۲ +NAA _۱
۴۹/۳۳ a	۸۹/۶۷ a	۳۱/۰۰ ab		BAP _۳ +NAA _۱
۳۷/۶۷ bcd	۶۷/۰ ce	۱۸/۰۰ cde		BAP _۱ +NAA _۲
۴۰/۶۷ bc	۷۸/۳۳ abc	۳۲/۰۰ ab		BAP _۲ +NAA _۲
۴۶/۰۰ ab	۸۷/۰۰ ab	۲۷/۶۷ bc		BAP _۳ +NAA _۲
۳۳/۶۷ cd	۶۳/۰ def	۱۵/۳۳ ef		BAP _۱ +NAA _۳
۳۸/۶۷ bcd	۷۴/۰۰ abcd	۲۸/۰۰ bc		BAP _۲ +NAA _۳
۴۳/۳۳ abc	۸۴/۳۳ ab	۲۴/۶۷ bcd		BAP _۳ +NAA _۳

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر تنظیم کننده رشد بر تعداد شاخساره سه گونه زالزالک

(*C.aronia*, *C.pseudohetrophylla*, *C.meyeri*)

<i>C.meyeri</i>	<i>C.aronia</i>	<i>C.pseudohetrophylla</i>	گونه	تیمار
۲/۰۰ cde	۳/۰۰ bcd	۲/۳۳ cd		BAP _۱ +NAA _۱
۲/۶۷ bc	۳/۳۳ bc	۳/۰۰ ab		BAP _۲ +NAA _۱
۳/۰۰ abc	۴/۰۰ a	۳/۳۳ a		BAP _۳ +NAA _۱
۱/۶۷ cf	۲/۳۳ cd	۲/۰۰ cde		BAP _۱ +NAA _۲
۲/۳۳ bcd	۲/۶۷ bc	۲/۶۷ bc		BAP _۲ +NAA _۲
۲/۶۷ bc	۳/۳۳ b	۲/۶۷ bc		BAP _۳ +NAA _۲
۱/۳۳ cf	۱/۶۷ de	۱/۳۳ de		BAP _۱ +NAA _۳
۱/۶۷ cf	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde		BAP _۲ +NAA _۳
۲/۳۳ bcd	۲/۶۷ cd	۲/۳۳ cd		BAP _۳ +NAA _۳

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر تنظیم‌کننده رشد بر طول شاخساره سه گونه زالزالک (*C. aronia*, *C. pseudohetrophylla*, *C. meyeri*)

تیمار	گونه	<i>C.pseudohetrophylla</i>	<i>C.aronia</i>	<i>C.meyeri</i>
BAP ₁ +NAA ₁	۲۰/۶۷ a	۱۵/۰۰ a	۲۲/۶۷ a	
BAP ₂ +NAA ₁	۱۷/۶۷ bcd	۸/۶۷ d	۱۶/۳۳ cd	
BAP ₃ +NAA ₁	۱۲/۶۷ e	۷/۰۰ def	۱۰/۰۰ de	
BAP ₁ +NAA ₂	۱۹/۰۰ ab	۱۴/۳۳ ab	۲۲/۰۰ ab	
BAP ₂ +NAA ₂	۱۶/۰۰ cd	۸/۰۰ de	۱۵/۶۷ cd	
BAP ₃ +NAA ₂	۱۲/۰۰ ef	۶/۳۳ ef	۹/۳۳ de	
BAP ₁ +NAA ₃	۱۸/۳۳ bc	۱۳/۶۷ bc	۲۱/۳۳ abc	
BAP ₂ +NAA ₃	۱۵/۳۳ cde	۷/۳۳ def	۱۵/۰۰ cd	
BAP ₃ +NAA ₃	۱۱/۳۳ ef	۵/۶۷ ef	۸/۶۷ de	

میانگین‌های که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

ریشه‌زایی هر سه گونه زالزالک به دلیل نداشتن هیچ گونه ریشه‌ای، صرف‌نظر شد. شاخه‌ها در محیط کشت MS و MS ۱/۲ به شدت تولید کالوس کردند (شکل ۲).

تأثیر تیمارهای هورمونی بر ریشه‌زایی ۳ گونه زالزالک (*C. pseudohetrophylla*, *C. aronia*, *C. meyeri*) در هیچ‌یک از تیمارهای هورمونی و گونه‌ها ریشه‌زایی وجود نداشت، از این‌رو از تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به



شکل ۲- محیط کشت‌های مختلف به منظور ریشه‌زایی الف) محیط MS ب) محیط پشم سنگ ج) محیط MS ۱/۲



شکل ۳- گلدهی گونه *C. aronia* در محیط ریشه‌زایی حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA

بحث

تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر درصد ریزنمونه رشد کرده، تعداد شاخساره و طول شاخساره ۳ گونه زالزالک (آزمایش اول)

درصد ریزنمونه رشد کرده، تعداد شاخساره و طول شاخساره در این پژوهش تحت تأثیر گونه زالزالک و غلظت تنظیم‌کننده رشد بود. در این پژوهش حداکثر تعداد شاخساره (۴/۳۳ شاخه) در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۴ میلی‌گرم در لیتر BAP در گونه *C. aronia* مشاهده شد. تشکیل شاخساره بیانگر به وجود آمدن پریموردیوم‌های جدید شاخه تحت تأثیر ژنوتیپ گیاهی، نوع و غلظت هورمون‌های محیط کشت است. هورمون BAP جزو سایتوکینین‌ها بوده که سبب افزایش شاخساره می‌گردد. این میزان شاخساره‌زایی در غلظت بالای BAP در این تحقیق با نتایج Evers و همکاران (۱۹۸۸) روی درختان جنگلی، Freire و همکاران (۲۰۰۲) روی گلابی روکا و Gokbunar (۲۰۰۷) روی گونه *Crataegus SPP* مطابقت دارد. در حضور BAP شاخه‌زایی انجام می‌شود، ولی این شاخساره‌های جانبی از نوع محوری بوده و به ندرت از شاخساره‌های نابجا هستند (Muna et al., 1999). نقش و اثر BAP در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخساره‌های جدید است. بنابراین با افزایش غلظت BAP در محیط، شاخه‌زایی بیشتری تولید می‌شود (Iapichino et al., 2009) که دلیلی

بر نتایج این پژوهش است. در همین راستا Gokbunar (۲۰۰۷) در گونه *Crataegus spp* گزارش کرد که هیچ مورد شاخه‌زایی در محیط کشت حاوی NAA و بدون سایتوکینین انجام نشد، بنابراین سایتوکینین برای تشکیل شاخساره لازم است. همچنین در این پژوهش در تیمار با غلظت کم سایتوکینین شاخساره‌زایی کمتری انجام شد که با نتایج Ahmadloo و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. بزرگترین طول شاخساره به میزان ۲۲/۶۷ میلی‌متر در *C. meyeri* مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بعلاوه ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی سبب تنش در محیط شده و از طرفی به دلیل تولید شاخساره و رقابت بین شاخساره‌ها، کاهش طول شاخساره در تیمار-های با غلظت بالای BAP مشاهده شد. با افزایش غلظت BAP طول شاخساره کاهش یافت که ممکن است کاهش طول شاخساره به دلیل تأثیر BAP بر افزایش تعداد جوانه‌های نابجا روی ریزنمونه و افزایش رقابت بین جوانه‌ها باشد (Khodae et al., 2012). در حالی که در غلظت‌های کمتر BAP شاخساره‌ها با تعداد کمی شاخه جانبی شروع به رشد کردند و رقابت کمتری بین شاخساره‌ها مشاهده شد. در ضمن Baraldi (۱۹۸۸) در مورد بررسی اثر BAP روی *Prunus irsitta* نتیجه گرفت که BAP رشد طولی شاخه را کاهش می‌دهد، اما در این پژوهش در غلظت‌های بیشتر از ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP رشد طولی شاخه کاهش یافت، این

که این گلدهی به وضعیت فیزیولوژیکی درخت مادری که مواد گیاهی از آن گرفته شده نیز بستگی دارد. زالزالک از جمله گیاهان سخت ریشه‌زا بوده و ریشه‌زایی در ریزنمونه‌های به دست آمده از گیاهان بالغ ممکن است رضایت‌بخش نباشد، اما این احتمالاً در نتیجه بلوغ فیزیولوژیکی گیاه باشد، که ممکن است برای چند ماه و حتی چند سال در گیاه باقی بماند (Nas et al., 2003). در آزمایشی توسط Maharic و همکاران (۲۰۰۹) در ماه June شاخه‌های *C. sinica* در محیط ۱/۲MS حاوی ۱ میلی-گرم در لیتر IBA شروع به گلدهی کردند، که همسو با نتایج این تحقیق است (شکل ۳). در مورد گلدهی در شرایط درون شیشه‌ای وضعیت فیزیولوژیکی ریزنمونه‌های مادری، محیط کشت کم نمک، حضور اکسین و سایتوکینین سبب انتقال از مرحله رویشی به مریستم‌های گل می‌شود (Walter et al., 1998). در طول مدت اندام‌زایی و مطابق با فرمولاسیون تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط، القاء تقسیم سلولی تسریع پیدا کرده و منجر به تشکیل حالت مریستمی می‌گردد، که ممکن است از نظر مورفولوژیکی انعطاف‌پذیر بوده و قابلیت توسعه به تعدادی پریموردیای ریشه یا شاخه گل داشته باشد، که این خاصیت توسعه منحصر به فرد ممکن است یک تفسیر منطقی و معقول در مورد گلدهی در شرایط درون‌شیشه‌ای باشد (Theologies, 1986). عدم ریشه‌زایی در این تحقیق با نتایج Al-mansrah (۲۰۱۲) روی گونه *Crataegus aronia* و نیز Hangyan و همکاران (۲۰۰۷) روی گونه *C. pinnatifida* مطابقت دارد. در بررسی Nas و همکاران (۲۰۱۲) روی گونه *C. aronia* پس از دو سال واکشت کردن گیاهچه‌ها، همچنین Ahmadloo و همکاران (۲۰۱۴) بر روی گونه *C. pseudoheterophylla* بیشترین درصد ریشه‌زایی در محیط ۱/۲MS با یک هفته قرارگیری در تاریکی در تیمار حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۴۰ میلی‌گرم در لیتر PG به دست آمد، که این اختلاف ممکن است به شرایط فیزیولوژیکی، فصل انجام آزمایش و سن فیزیولوژیکی نمونه‌ها مرتبط باشد. به منظور تکثیر تجاری و

تفاوت می‌تواند به فیزیولوژی و سازوکار جذب گیاه مربوط باشد. بنابراین به نظر می‌رسد که این گونه‌های زالزالک مشابه جنس‌های دیگر خانواده گلسرخیان مانند جنس *Prunus* که در غلظت‌های بالاتر از ۰/۷ میلی‌گرم در لیتر BAP تولید شاخه‌های رزت می‌کنند، نیازمند سطوح پایین‌تر هورمون سایتوکینین برای ایجاد شاخساره‌هایی با طول بیشتر می‌باشند (Kadota et al., 2003). بیشترین درصد ریزنمونه رشد کرده به میزان ۸۹/۶۷ درصد در *C. aronia* و کمترین درصد ریزنمونه رشد کرده در *C. pseudoheterophylla* به میزان ۱۵/۳۳ درصد مشاهده شد (جدول ۲). میزان باززایی در رقم‌های مختلف متفاوت بوده و اختلاف باززایی در ارقام مختلف، نشانه‌هایی از لینکاژ ژنتیکی است، که موجب عدم باززایی می‌شود، و علت آن معمولاً ژنتیکی است (Passey, 2003). البته غلظت بالای اکسین درونی ممکن است از باززایی شاخه جلوگیری کند (Cassels, 1979). باززایی با توجه به گونه و رقم بسیار متفاوت بوده و پروتکل باززایی از یک گونه به گونه دیگر و از رقمی به رقم دیگر متفاوت است (Biswas et al., 2008).

تأثیر تیمار هورمونی بر ریشه‌زایی ۳ گونه زالزالک (آزمایش ۲)

در محیط کشت‌های مذکور و تیمارهای مختلف هورمونی هیچ ریشه‌ای تولید نشد، اما در تیمار کوتاه‌مدت که ریزنمونه‌ها به مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق نگهداری و بعد به محیط کشت فاقد هورمون و شرایط روشنایی ۱۶/۸ انتقال یافتند، گونه *C. aronia* در محیط کشت ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA در خردادماه شروع به گلدهی کرد. در همین راستا Mehmet و همکاران (۲۰۱۲) در گونه *C. aronia* ریشه‌زایی کمتر از ۱۰ درصد را گزارش کردند. این امر ممکن است به این دلیل باشد که هنوز ریزنمونه‌ها از نظر فیزیولوژیکی بالغ بوده و به اندازه کافی جوانسازی انجام نشده است، به طوری که وقتی این ریزنمونه‌ها به محیط کشت جدید منتقل شدند، در تیمار کوتاه‌مدت تمام جوانه‌های گل در گونه *C. aronia* توسعه یافتند و شروع به گلدهی کردند،

- 98.
- Freire, I. C. G., Oelho, C. P. S. C., and Barros, M. T. F., 2002. Improved culture media for the *in vitro* establishment of pear from nodal cuttings. *Acta Horticulturae*, 569: 457- 461.
- Gokbunar, L., 2007. *In vitro* micropropagation of hawthorn (*Crataegu sp*). M. Sc. Of Horticulture. Kahramanmaras sutcu Imam University Institute of Natural and Applied Science, Turkey. 42p.
- Hongyan, D., Zhihong, Z., Xiuwu, G., 2007. Adventitious bud regeneration from leaf and cotyledon explants of Chinese hawthorn (*Crataegus pinnatifida* bge. var. major N.E.Br.). *In Vitro Cell. In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant*, 43: 2-8.
- Iapichino, G., Airò M., 2009. Multiplication of *Crataegus monogyna* by invitro culture of nodal segments. *Acta Horticulturae*, 812: 135-140.
- ISTA (International seed testing Association)., 2008. Annexe to chapter seed health tetting methods. 199p.
- Kadota, M., Niimi, Y., 2003. Effects of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity in *In vitro* pear cultivar shoots. *Plant Cell, Tissue Organ Culture*, 72: 261-265.
- Khodae Chegini, F., Abdollahi, H., Ershadi, A., Asna Ashari, M., 2012. Determination of micropropagation protocol for OH × F333 and OH × F69 pear clonal rootstocks. *Seed and Plant Production Journal*, 2-27(3): 297-312. (In Farsi).
- Maharic, N., Elgengaihi, S., Taha, H., 2009. *In vitro* propagation of the endangered Sinai hawthorn *Crataegus sinaica* Boiss. *International Journal of Academic Research*, 1(1): 24-29.
- Mehmet, N., Leyla G., Nevazat, S., Murat, A., Merve, D., Zahide, S., 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. *Plant Growth Regulators*, 167: 57-63.
- Muna, A., Ahmad, A., Mahmoud, K., Abdul-Rahman, K., 1999. *In vitro* propagation of a semi-dwarfing cherry rootstock. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 59: 203-208.
- Murashige, T., Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bio assay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15: 473-497.
- Nas, M.N, Gokbunar, L., Sevgin, N., Aydemir, M., Dagli, M., Susluoglu, Z., 2012. Micropropagation of mature *Crataegus aronia* L., a medicinal and ornamental plant with rootstock potential for pome fruit. *Journal of Plant Growth Regulators*, 67(1): 57-63.
- Nas, M.N., Read, P.E., Miller, V., Rutter, P.A., 2003. *In vitro* rejuvenation of woody species is temporary. به دست آوردن دستورالعمل ریشه‌زایی گونه‌های گیاهی مورد استفاده در این پژوهش، ضروری است تیمارهایی با غلظت‌های مختلف اکسین و محیط‌های کشت در مطالعات بعدی سایر پژوهشگران انجام شود.
- منابع مورد استفاده:
- Ahmadloo, F., TabariKoochaksaraei, M., Azadi, P., Hamidi, A. and Beiramizadeh, E., 2014. Micropropagation of *Crataegus pseudo heterophylla* Pojark. via *in vitro* culture. *Journal of Wood and Forest Science and Technology*, 21:1-23 (In persian).
- AL-Aubaidi. H.K.M., 2011. Rooting of *Crataegus Japan* L. *In vitro* using IBA. *Journal of Biotechnology Research Center*, 5(3): 5-8.
- Al-Manasrah, W.S., 2012. *In vitro* propagation of *Crataegus aronia* L. and secondary metabolites detection. M.Sc. Thesis. Palestine Polytechnic University. Deanship of Higher Studies and Scientific Research. Master Program of Biotechnology. Sydney, Australia. 99 p.
- Arjmandi, A., Nazeri, V., Ejtehadi, H. and Joharchi, M.R., 2009. Review of the genus *Crataegus* in the North East and East of Iran. *Rostaniha*, 10: 1-12.
- Baraldi, R., 1988. *In vitro* shoot development of *Prunus GF-655-2*: Interaction between light and benzyl adenine. *Physiologia Plantarum*, 74: 440-443.
- Biswas, M.K., Islam, R., Hossain, M., 2008. Micropropagation and field evaluation of strawberry in Bangladesh. *Journal of Agriculture Technology*, 4(1): 167-182.
- Bujarska-Borkowska, B., 2002. Breaking of seed dormancy, germination and seedling emergence of the common hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq). *Dendrobiology*, 47: 61-70.
- Caboni, E., Meneghini, M., Tonelli, M., 2010. Improved micropropagation of azarole (*Crataegus azarolus* L.). *Propagation of Ornamental Plants*, 10(1): 9-13.
- Cassells, A.C., 1979. The effect of 2,3,5-tri-iodobenzoic acid on caulogenesis in callus cultures of tomato and pelargonium. *Physiology Plant*, 46: 156-164.
- Donmez, A.A., 2004. The genus *Crataegus* L. (*Rosaceae*) with special reference to hybridization and biodiversity in Turkey *Journal of Botany*, 28: 29-37.
- Evers, P.W., Donkers, J., Prat A, and Vermeer, E., 1988. Micropropagation of forest trees through tissue culture. Centre for agricultural publishing and documentation (pudoc), Wageningen. In: *In vitro* culture of trees, 1992, J. M. Bonga & Aderkas P. pp:

131.

- Theologies, A., 1986. Rapid gene regulation by anxin. Annual Reviews, Plant Physiology, 37: 407– 488.
- Walter, H., Eny, I.S.F., 1998. New-formation of flower buds and other morphogenetic responses in tissue cultures of *Melia azedarach*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 64: 63-67.
- Acta Horticulture, 625: 211–215.
- Passey, A.J., Barrett, K.J., James, D.J., 2003. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria×ananasa* Duch.) using a range of explants types. Plant Cell Reports, 21: 397-401.
- Thakur R. Raw, P. S., 1998. *In vitro* plant regeneration in *Melia azedarach*. L. Plant Cell Reports, 18:127-

Effects of species and plant growth regulators on shoots and rooting of three species of hawthorn

N. Taimori¹, D. Kahrizi^{2*}, V. Abdossi³ and A. Papzan⁴

1- Department of Horticulture, Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran

2*- Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, Razi University, Kermanshah, I.R. Iran

E-mail: dkahrizi@Yahoo.com

3- Assistant Professor, Department of Horticulture, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, I.R. Iran

4- Associate Professor, Agricultural Extension and Education, Faculty of Agriculture, Razi University, Kermanshah, I.R. Iran

Received: 17.01.2017 Accepted: 28.03.2017

Abstract

Hawthorn (*Crataegus* spp) is one of the important forest genera in Iran. It is high compatible to cold and drought and useful as a rootstock for quince, pear and apple. This research was carried out in order to assess shoots and rooting of three species of hawthorn (*C. aronia*, *C. pseudohetrophylla*, *C. meyeri*). For shoot production, different concentrations of plant growth regulators and single-node were used. The explants were cultured on different concentrations of BAP and NAA on MS medium. On average after 6 weeks maximum number of shoots in concentration of 1mg/l NAA plus 4 mg/l BAP (4.33 branch) was observed. The highest percentage of explants (89.67 %) was observed on *C. aronia* and maximum shoot length (22.67 mm) was observed on *C. meyeri* using 1 mg/l NAA and 1 mg/l BAP. For rooting stage, we used MS, 1/2MS and rock wool with proliferated explants derived from suker and *in vitro* proliferated shoots. The explants were cultured on 16 different media treatments of MS, 1/2MS and rock wool medium. Root was not formed in none of the species, treatments and media. Maximum shoot length (22.67 mm) was observed on *C. meyeri*, and maximum number of branches was observed on *C. aronia*.

Key words: Hawthorn, proliferation, rooting, plant growth regulators