مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۱۷ شماره ۱ صفحه‌های ۸۹ تا ۱۰۲ (۱۳۹۵)

انگیزش پینه و باززایی گیاه از کشت رویان در پایه GF677[1]

Callus Induction and Plant Regeneration from Embryo Culture in GF677 Rootstock

محمدرضا عرب و اختر شکافنده*[2]

چکیده

در این پژوهش دستور کار کامل ریزافزایی GF677 از روش اندام‌زایی غیرمستقیم از کشت رویان شرح داده شد. بذرهای بالغ GF677 پس از گندزدایی، به منظور شکستن نیاز سرمایی در شرایط سترون در محلول ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک اسید (GA_3) با ۵ تیمار زمانی (۰، ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت) و در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس قرار گرفتند. ریزنمونه‌های رویان با دقت از لپه‌های بذرها جدا و جهت پینه‌زایی روی محیط کشت پایه موراشیگ و اسکوگ (MS) با تیمارهای مختلف تنظیم کننده رشد کشت شدند. نتیجه‌ها نشان داد به طور کلی تیمار GA_3 سبب افزایش پینه‌زایی از ریزنمونه‌ها شد که این اثر تنها در حضور ۲، ۴- دی کلروفنوکسی استیک اسید (2,4-D) و بنزیل آدنین (BA) صورت گرفت. پینه‌ها به‌منظور اندام‌زایی روی محیط کشت دارای BA (۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) به همراه ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) و ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتیریک اسید (IBA) منتقل شدند. بیشترین تعداد شاخه در هر ریزنمونه (۱۶/۶۰) در حضور ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد. تیمار بذرها در محلول GA_3 سبب کاهش مقدار باززایی شاخه از پینه شد. جهت ریشه زایی ریزشاخه‌ها، سه نوع اکسین IBA، NAA و ایندول استیک اسید (IAA) به غلظت های ۰، ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت MS نیم قدرت بررسی شد که به‌طور کلی بیشترین ریشه‌زایی در حضور IBA مشاهده شد. سازگاری گیاهک‌های ریشه‌دار شده پس از انتقال به محیط خاکی در شرایط گلخانه ۸۵٪ بود.

واژه‌های کلیدی: اندام‌زایی، کشت بافت دورگه هلو- بادام، کشت درون شیشه‌ای.

مقدمه

استفاده از دورگه‌های بین گونه‌ای به عنوان پایه برای درخت‌های میوه از جمله بادام و هلو از چندین دهه قبل مورد توجه قرار گرفته است (۳، ۵) و هم اکنون در اروپا بین پایه‌های مختلف هلو×بادام، بیشترین گرایش به استفاده از پایه GF677 می باشد (۳). GF677 تجانس خوبی با بادام و هلو دارد، درخت‌های پیوند شده روی آن علاوه بر عمر طولانی، قوی و پر رشد هستند و پس از انتقال به زمین اصلی درصد بقای آنها بالاست و زود به بار می‌نشینند (۳، ۷)، ضمن این که محصول بیشتری نیز نسبت به والدین خود در شرایط یکسان تولید می‌کنند (۱). از ویژگی‌های بارز GF677 تحمل در برابر خشکی و زردی بین رگبرگی[3] است و برای خاک‌های آهکی با pH بالای ۸/۷ و نیز خاک‌های سبک شنی توصیه می‌شوند (۷).

با وجود برتری‌های ویژه پایه GF677، افزایش آن با دشواری‌هایی روبروست که می‌توان به درصد ریشه-زایی کم قلمه‌ها و تعداد کم گیاهان تولید شده در روش خوابانیدن اشاره کرد (۸). روش دیگر در افزایش GF677

---

۱ – تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۵/۴/۳۰

۲ – به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک:(shekafan@shirazu.ac.ir)

۳- Chlorosis

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

استفاده از روش کشت بافت است. مزیت مهم آن نسبت به روش‌های مرسوم این است که در زمان و فضای محدود، از یک گیاه می‌توان تعداد زیادی گیاه با ویژگی‌های ژنتیکی یکسان به‌دست آورد (۱۳). اولین گزارش در خصوص کشت درون شیشه ای[۱] GF677 توسط کستر (۲۰) در سال ۱۹۷۰ ارائه شد. سپس تباچنیک و کستر (۲۹) در سال ۱۹۷۷ توانستند با انجام تغییرهایی در محیط کشت ناپ[۲] نمونه‌های گیاهی را کشت و شاخه‌زایی را تحریک نمایند ولی در خصوص انتقال گیاهچه‌های تولید شده به خاک گزارشی داده نشد. روزیک و همکاران (۲۵) در سال ۱۹۸۴ بیشترین پرآوری شاخه‌های GF677 را با کاربرد ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر ایندول استیک اسید (IAA) و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA) و سریع‌ترین ریشه‌زایی را نیز با کاربرد ۱ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک اسید (NAA) به‌دست آوردند. در مطالعه‌های فوتوپولوس و سوتیروپولو (۱۶) محیط کشت MS نیم‌قدرت به همراه ۱/۵ میکرومولار ایندول بوتیریک اسید (IBA) درصد ریشه‌زایی GF677 را افزایش داد. همچنین آزمایش آنها نشان داد که اعمال یک دوره‌ی تاریکی به مدت ۱۲ روز قبل از دوره کشت افزایش قابل توجهی در ویژگی‌های کمی و کیفی ریشه‌زایی را به همراه خواهد داشت. نظامی آلانق و همکاران (۸) تأثیر برخی محیط‌های کشت و تنظیم کننده‌های رشد را در افزایش این پایه بررسی کردند و نتیجه‌های آن‌ها نشان داد با کاربرد ۰/۵ درصد پکتین[۳] در محیط کشت‌های تباچنیک و کستر (TK) و محیط کشت گیاهان چوبی[۴] (WPM)، مقدار شاخه‌زایی افزایش یافت، ولی در محیط کشت کامل (MS) دارای ۰/۵٪ پکتین مقدار شاخه‌زایی کم ولی در مقابل کیفیت رشد طبیعی شاخه‌های جدید در این محیط کشت (MS) مطلوب‌تر از دو محیط کشت دیگر بود.

همچنین تیمار ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BA با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر زآتین ریبوزاید[۵] (ZR) در محیط کشت MS دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر پکتین بهترین تیمار هورمونی در رابطه با مقدار شاخه‌زایی بود و رشد طبیعی را به نمایش گذاشت. سپهوند و همکاران (۲۷) در سال ۲۰۱۲ گزارش کردند کاهش غلظت میواینوزیتول[۶] از ۱۰۰ میلی-گرم در لیتر به ۱۰ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت MS از مشکل روزت[۷] شدن برگ‌ها جلوگیری کرده و همچنین کاربرد ۱/۶ میلی‌گرم در لیتر تیامین[۸] در محیط کشت لاینسمایر و اسکوگ[۹] (LS) ریشه‌زایی شاخه‌ها را به‌طور مؤثری افزایش داد.

با وجود این که تاکنون پژوهش‌های زیادی در خصوص کشت درون شیشه ای GF677 انجام شده، ولی این پژوهش‌ها به طور عمده در ارتباط با کشت‌های جوانه، ساقه و برگ بود و روش کشت رویان گزارش نشده است. ضمن اینکه در این موردها استفاده از ریزنمونه‌های یاد شده و روش‌های به کار رفته در ریزازدیادی GF677 بازده کار و همچنین ریشه‌زایی شاخه‌ها اندک و برخی شاخه‌های تولید شده در محیط کشت درون شیشه‌ای، با مشکل شیشه‌ای شدن[۱۰] مواجه بود (۳۱). برای باززایی موفق هر گیاه ممکن است ریزنمونه خاصی بهترین عملکرد را داشته باشد (۱۳). استفاده از بذرها جهت پینه‌زایی علاوه بر امکان گندزدایی مطلوب، توانایی تقسیم یاخته‌ای بالاتری نیز دارد (۶). از آن‌جایی که بافت پینه یک ساختار سازمان نیافته است از ثبات ژنتیکی کمتری برخوردار و بیان شده است که امکان تنوع[۱۱] درون شیشه‌ای در این روش بیشتر است. با این حال طبق گزارش‌های متعدد به جهت انتقال ژن مؤثر و کارایی بالا در باززایی و انتخاب گیاهان مورد نظر از پینه، پینه‌ها سیستم باززایی بسیار مناسب و کارامدی جهت انجام فرایند انتقال ژن هستند (۱۸، ۱۹، ۲۴، ۳۳). همچنین می‌توان از گیاهان به‌دست آمده از بافت پینه در فرایند انتقال ژن و چرخه به‌نژادی در جهت کوتاه کردن دوره رشدونمو گیاه استفاده نمود (۲۱). از دیگر کاربردهای این روش امکان ایجاد گوناگونی بدن همگروهی[۱۲] است که این ویژگی می‌تواند جهت گزینش

۱- *In vitro*
۲- Knop
۳- Pectin
۴- Woody plant medium
۵- Ribosoid Zeatin
۶- Myo-inosositol
۷- Rosette
۸- Thiamin
۹- Linsmaier and Skoog
۱۰- Vitrification
۱۱- Variation
۱۲- Somaclonal variation

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

درون شیشه‌ای جهش‌یافته‌های برتر یا مقاوم در برابر تنش‌های محیطی، آفت و بیماری‌ها استفاده شود. این روش همچنین می‌تواند تولید نژادگان‌های جدید و انتشار مخزن‌های ژنی قابل دسترس در جهت به‌نژادی گونه‌های درخت‌های میوه را تسریع کند (۱۳). این مقاله اولین گزارش از باززایی موفق پایه GF677 به صورت اندام‌زایی غیرمستقیم از ریزنمونه‌های رویان است که می‌تواند دستور کار زیربنایی برای انجام پژوهش‌هایی که در بالا بیان شد باشد. این پژوهش با هدف بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد مختلف بر پینه‌زایی، شاخه‌زایی از پینه‌ها و ریشه‌زایی مطلوب شاخه‌های ایجاد شده از کشت رویان پایه GF677، انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری بذر و گندزدایی

میوه‌های بالغ GF677 بعد از رسیدن کامل میوه (۱۲۰ تا ۱۵۰ روز بعد از گرده‌افشانی گیاه) از مرکز تحقیقات انجیر استهبان جمع آوری و پس از جدا نمودن قسمت گوشتی میوه هسته‌ها با آب شست و شو و در مکان خشک و مناسبی قرار داده شدند تا خشک شوند. سپس پوسته سخت بذرها جدا شد، طوری که به بذر آسیبی نرسد و بذرها به مدت ۲۰ دقیقه در بنومیل ۳ در هزار غوطه‌ور شدند. در ادامه بذرها چندین بار آبکشی و سپس به دستگاه جریان هوای گندزدایی شده منتقل شدند. به منظور گندزدایی، ابتدا بذرها به ارلن گندزدایی منتقل شدند و به مدت ۱ دقیقه در الکل۷۰٪ و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در کلراکس ۲۰٪ قرار گرفتند. بعد از این مدت بذرها ۳-۴ مرتبه با آب مقطر گندزدایی شده آبکشی شدند.

تیمار بذر با جیبرلین و آماده سازی رویان جهت کشت

به منظور برطرف شدن نیاز سرمایی بذرها، تیمار با جیبرلین مطابق روش زیر انجام شد:

ابتدا ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر جیبرلین تهیه و به همراه یک شیشه محتوای ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر (شاهد) pH در حدود ۵/۷ تنظیم و سپس به مدت ۱۵ دقیقه اتوکلاو شد. در زیر دستگاه جریان هوای گندزدایی شده، محلول جیبرلین در ۴ شیشه درپوش‌دار گندزدایی شده به مقدار ۵۰ میلی‌لیتر تقسیم و به عنوان تیمارهای زمانی ۱۲، ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت نام‌گذاری شد. شیشه آب مقطر نیز به عنوان تیمار شاهد (صفر) در نظر گرفته و تعداد ۲۰ عدد بذر در هر یک از تیمارهای بالا قرار داده شد. با نگهداری در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس و شرایط گندزدایی شده بعد از فاصله‌های زمانی بیان شده، رویان‌ها به منظور انگیزش پینه کشت شدند. به این ترتیب که ابتدا با دقت هر رویان از لپه جدا و جهت جلوگیری از خشک شدن روی یک کاغذ صافی مرطوب قرار داده و سپس به صورتی که قسمتی از رویان داخل محیط کشت قرار گیرد، کشت شد.

انگیزش پینه

به منظور بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر پینه‌زایی، ریزنمونه‌های رویان از تیمارهای مختلف جیبرلین روی محیط کشت MS با سه تیمار ترکیبی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی (۴ میلی‌گرم در لیتر دی کلرو فنوکسی استیک اسید (2,4-D) همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر2,4-D همراه با ۴ میلی-گرم در لیتر BA و تیمار شاهد بدون تنظیم کننده رشد) کشت شدند. ظرف‌های کشت شده در ۱۰ روز ابتدای کشت در تاریکی نگهداری سپس به شرایط نوری (۱۶ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی) و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند. ۴ هفته بعد از کشت، مقدار حجم پینه با استفاده از روش استاندارد هوکر و نی برز (۱۹) از روش امتیازدهی از شماره ۰ تا ۱۰ (شماره ۰ بدون پینه و شماره ۱۰ بزرگ ترین پینه) رتبه‌بندی شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار و در هر تکرار ۴ ریزنمونه اجرا شد.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

شاخه‌زایی از پینه

پینه‌های حاصل از آزمایش قبل، با تقسیم به قطعه‌هایی به قطر تقریبی ۵ میلی‌متر به منظور انگیزش شاخه، روی محیط کشت MS با چهار غلظت مختلف BA (۰، ۱، ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) همراه با IBA و NAA هر کدام به غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر کشت شدند. پس از ۴ هفته پینه‌ها به همان محیط‌های کشت قبلی منتقل شدند و بعد از ۴ هفته دیگر تعداد پینه‌های شاخه‌زا و تعداد شاخه در هر ریزنمونه شمارش شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۴ تکرار و در هر تکرار ۴ ریزنمونه انجام شد.

ریشه زایی

شاخه های حاصل از پینه به طول بیشتر از ۱ سانتی‌متر جهت بررسی ریشه‌زایی انتخاب شدند. شاخه‌ها روی محیط کشت MS نیم غلظت شامل سه نوع اکسین مختلف (IBA، NAA و IAA) به غلظت‌های ۰/۵، ۱، ۲، ۴ و ۸ میلی‌گرم در لیتر کشت شدند. ظرف‌های کشت پس از ۱۰ روز در شرایط تاریکی به شرایط نوری (۱۶ ساعت روشنایی/ ۸ ساعت تاریکی) و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس منتقل شدند و ۴ هفته بعد از کشت درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و میانگین طول ریشه در هر شاخه یادداشت برداری شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۱ ریزنمونه انجام شد.

سازگاری گیاهک‌ها

گیاهک‌های با طول ۲ تا ۳ سانتی‌متر و ۳ تا ۴ برگ، با احتیاط از محیط کشت ریشه‌زایی خارج شدند. گیاهک‌ها با آب مقطر شسته شدند و بقایای محیط کشت به آرامی از روی ریشه‌ها حذف شد. به منظور جلوگیری از آلودگی، ریشه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در محلول قارچ‌کش بنومیل ۳ در هزار قرار گرفتند. سپس به مخلوط خاکی پیت، پرلایت و ماسه به نسبت حجمی ۲: ۲: ۱ انتقال یافتند و روی هر گلدان با یک لیوان پلاستیکی شفاف و گندزدایی شده با قارچ‌کش طوری پوشانده شد که شرایط رطوبت نسبی بالا فراهم شود. گیاهک‌ها در دمای ۳±۲۵ درجه سلسیوس، شدت نور ۱/۵ کیلولوکس و طول روز ۱۶ ساعت برای سازگاری نگهداری شدند. بعد از یک هفته روی پوشش لیوان‌ها تعدادی شکاف ایجاد شد تا تبادل‌های هوایی انجام و گیاهک‌ها به تدریج با شرایط طبیعی سازگار شوند. به تدریج پوشش روی گلدان‌ها برداشته شد و گیاهک‌ها برای سازگاری بیشتر در گلدان‌های پلاستیکی دارای آمیخته‌ای از شن، خاک‌برگ و پیت به نسبت حجمی ۱: ۱: ۱ کشت و به گلخانه منتقل شدند.

در این پژوهش تجزیه داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج و بحث

اثر تیمارهای GA_3 و سایر تنظیم کننده‌های رشد بر پینه‌زایی رویان

جدول ۱ برهمکنش تیمار GA_3 و سایر تنظیم کننده‌های رشد بر مقدار پینه‌زایی ریزنمونه‌های رویان GF677 را نشان می‌دهد. به‌طور کلی بدون در نظر گرفتن تیمارهای تنظیم کننده رشد، ریزنمونه‌هایی که قبل از کشت در محلول GA_3 تیمار شدند، پینه‌زایی بالاتری را نشان دادند. بر همین اساس تیمار ۲۴ ساعت GA_3 سبب انگیزش بالاترین مقدار پینه‌زایی (۵/۵۷) شد که نسبت به شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد. با افزایش زمان کاربرد GA_3 به ۴۸ و ۹۶ ساعت مقدار پینه‌زایی کاهش یافت.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

جدول ۱- برهمکنش تیمار GA_3 و سایر تنظیم کننده‌های رشد بر مقدار پینه‌زایی رویان GF677.

Table 1. Interaction of GA_3 and other plant growth regulators on callus induction of GF677 embryos.

جیبرلین GA3 (hr)	تنظیم کننده‌های رشد گیاهی Plant growth regulators(mg 1^{-1})			میانگین Mean
	شاهد Control	0.5 2,4-D + 4 BA	4 2,4-D + 0.5 BA	
0	0.00 d †	5.62 bc	5.62 bc	3.75 B
12	0.00 d	5.83 bc	5.83 bc	4.37 AB
24	0.00 d	7.00 b	9.37 a	5.57 A
48	0.00 d	9.04 a	4.37 c	4.82 AB
96	0.00 d	5.00 bc	6.66 bc	4.28 B
میانگین Mean	0.00 B	6.57 A	6.35 A	

† Means with the similar letters (small letters for interaction and capital letters for main effects) are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

† میانگین‌هایی که حرف‌های (حرف‌های کوچک برای برهمکنش‌ها و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) یکسانی دارند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه ای دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

بدون در نظر گرفتن تیمارهای جیبرلین، به طور کلی اثر تیمارهای تنظیم کننده رشد نسبت به شاهد معنی‌دار بود، در حالی که در تیمار شاهد پینه‌زایی مشاهده نشد. برهمکنش تیمار GA_3 و تنظیم کننده‌های رشد نشان داد بیشترین پینه‌زایی (۹/۳۷) در محیط کشت دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و با تیمار ۲۴ ساعت GA_3 به‌دست آمد که با تیمار ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم 2,4-D و با تیمار ۴۸ ساعت GA_3 تفاوت معنی داری نداشت (شکل ۱).

استفاده از بذرها جهت پینه‌زایی علاوه بر امکان گندزدایی مطلوب، توانایی تقسیم یاخته‌ای بالاتری نیز دارند (۶). بذر بالغ GF677 به جهت داشتن دوره رکود طولانی و نیز مقدار آبسایزیک اسید (ABA) بالا، برای تنژگی نیازمند سرمادهی می‌باشد، بنابراین به نظر می‌رسد بالا بودن سطح ABA موجود در بذر می‌تواند در کشت درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های حاصل از آن نیز مشکل‌ساز باشد. مشخص شده که جیبرلین‌ها می‌توانند جایگزین سرمادهی شوند و با شکستن دوره رکود، سطح ABA بذرها را کاهش دهند (۱۱). نتیجه‌های این پژوهش نشان می‌دهد تیمار بذرها با محلول GA_3 سبب افزایش پینه‌زایی ریزنمونه‌های رویان شد، اما این عمل تنها در حضور تنظیم کننده‌های رشد اکسین و سایتوکنین صورت گرفت؛ در محیط کشت بدون تنظیم کننده رشد (شاهد) پینه‌زایی مشاهده نشد. بیان شده که جیبرلین‌ها دراز شدن و تقسیم یاخته‌ای را تحریک می‌کنند ولی مشاهده‌هایی وجود دارد که برای پیام‌رسانی GA_3، به اکسین نیاز است (۱۱، ۳۰) بنابراین به احتمال برهمکنش GA_3 و اکسین 2,4-D در افزایش پینه‌زایی در این پژوهش به این مسأله مربوط می‌باشد. واضح است که تنظیم کننده‌های رشد می‌توانند بر واکنش‌های همدیگر تأثیر بگذارند، ولی این که اثرهای اکسین بر GA_3 تا چه مقدار قابل تعمیم است هنوز مشخص نشده است (۳۰).

به طور معمول برای انگیزش تشکیل پینه در محیط کشت از تنظیم کننده‌های رشد شامل اکسین و سایتوکنین با غلظت و نسبت‌های مختلف استفاده می‌شود. در این پژوهش از اکسین و سایتوکنین با دو غلظت متفاوت در ترکیب با یکدیگر استفاده شد. ویژگی عمومی اکسین‌ها انگیزش تقسیم یاخته و تشکیل پینه است، در صورتی که اگر سایتوکنین‌ها همراه اکسین به‌کار رود تقسیم یاخته را سرعت می‌بخشند (۲). نسبت اکسین به سایتوکنین نقش مؤثری در پینه‌زایی و همچنین قابلیت باززایی آن‌ها دارد. این نسبت در پینه‌زایی رویان بر نوع بافت و رنگ پینه‌ها

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

نیز اثر گذاشت. نسبت بالای اکسین به سایتوکنین (۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA) پینه-هایی با بافت ترد و دانه‌های شکری زرد رنگ تولید نمود (شکل ۱- ب و پ) ولی پینه‌های تشکیل شده در نسبت کم اکسین به سایتوکنین (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D + ۴ میلی‌گرم در لیتر BA) بافت متراکم، سفت و سفید تا قهوه-ای رنگ تشکیل دادند (شکل ۱- ت) که این پینه‌ها در مرحله بعد (باززایی گیاه از پینه) قابلیت باززایی بالاتری داشتند که با نتیجه‌های پولر و اسکورزا (۲۴) همسو است.

اثر BA و تیمارهای پینه‌زایی بر باززایی گیاه از پینه‌های حاصل از رویان GF677

بعد از ۲ هفته از انتقال پینه‌ها به محیط کشت باززایی، پینه‌ها شروع به اندام‌زایی نمودند (شکل ۱- الف). به طور کلی صرف نظر از سایر تیمارهای تنظیم کننده رشد، تیمار بذرها در محلول GA_3 به‌طور معنی‌داری سبب کاهش باززایی ریزنمونه‌ها شد (جدول ۲). تیمار بذرها به مدت ۱۲ ساعت در محلول GA_3 باعث کاهش درصد باززایی پینه‌ها (۱۳٪) نسبت به شاهد (۳۲/۸۱٪) شد. با افزایش زمان تیمار GA_3 مقدار باززایی پینه‌های به‌دست آمده از ریزنمونه‌های رویان کمتر شد به شکلی که با کاربرد آن به مدت ۹۶ ساعت مقدار باززایی گیاه از پینه‌ها به صفر رسید؛ بنابراین این تیمار از جدول‌های ۲ و ۳ حذف شد.

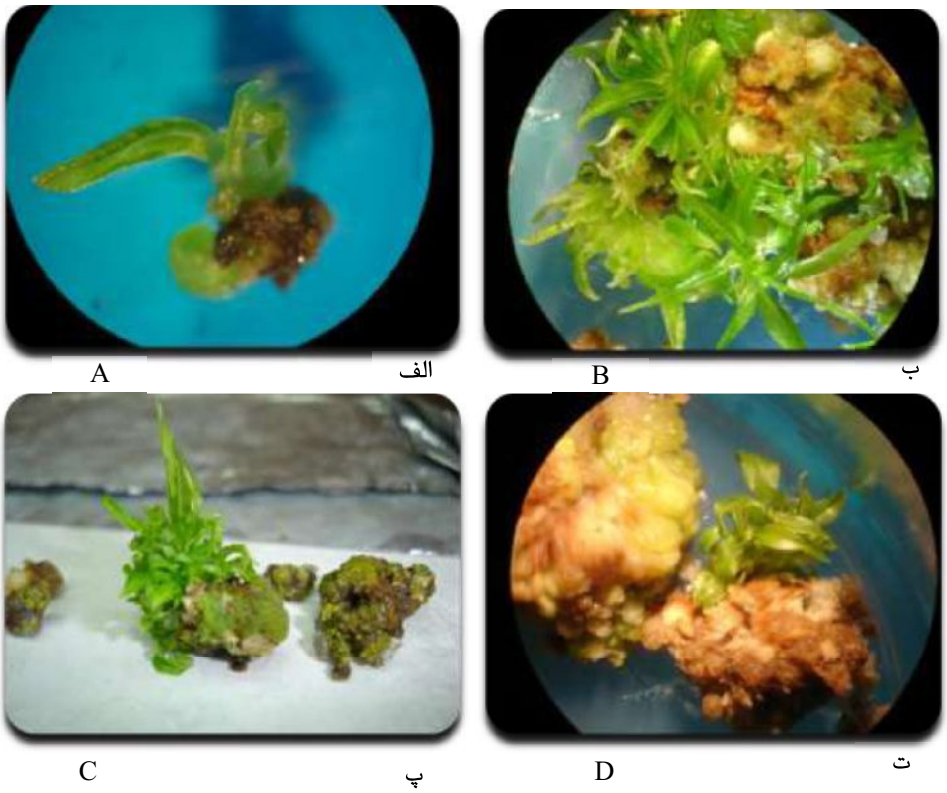

Fig. 1. Interaction between BA and callus regeneration treatments on plant regeneration from callus derived from embryos GF677. A: adventitious shoots on callus. B, C: Effect of regenerated treatment of 2 mg l^{-1} BA on calluses obtained with 4 mg l^{-1} BA + 0.5 mg l^{-1} 2,4-D. D: Effect of regenerated treatment of 2 mg l^{-1} BA on calluses obtained with 0.5 mg l^{-1} BA + 4 mg l^{-1} 2,4-D.

شکل ۱- برهمکنش BA و تیمارهای پینه‌زایی بر باززایی گیاه از پینه‌های حاصل از رویان GF677. الف: شروع تشکیل شاخه بر روی پینه. ب، پ: اثر تیمار بازایی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA بر پینه‌های به‌دست آمده در ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D. ت: اثر تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر BA با تیمار پینه‌زایی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA + ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

به طور کلی در بیشتر تیمارهای باززایی، پینه‌هایی که در محیط کشت پینه‌زایی دارای ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D تولید شده بودند، نسبت به پینه‌های به‌دست آمده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D، باززایی بالاتری نشان دادند. همچنین در میان تیمارهای باززایی، بالاترین مقدار باززایی (۳۴/۶۱٪) در ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با شاهد و سایر تیمارها داشت. با افزایش غلظت BA از صفر تا ۲ میلی‌گرم در لیتر مقدار باززایی افزایش و بعد از آن کاهش یافت که اختلاف آنها با شاهد (۰/۹۳٪) معنی‌دار بود.

برهمکنش تیمارهای پینه‌زایی و باززایی نشان داد که بیشترین مقدار باززایی (۹۰٪) در پینه‌های تشکیل شده با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و با تیمار باززایی ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (جدول ۲).

جدول ۲- برهمکنش بنزیل آدنین (BA) و تیمارهای پینه‌زایی (تیمار GA_3 و ترکیب‌های تنظیم کننده‌های رشد مختلف) بر درصد باززایی گیاه از پینه‌های حاصل از رویان GF677.

Table 2. Interaction of BA and callus regeneration treatments (GA_3 and different plant growth regulators) on percentage of plant regeneration from calluses derived of GF677 embryos.

جیبرلین GA_3 (hr)	تنظیم کننده‌های رشد Plant growth regulators	بنزیل آدنین BA (mg l^{-1}) 0	1	2	4	میانگین Mean
0	4 BA + 0.5 2,4-D	†de 6.25	20.00 de	90.00 a	62.50 b	32.81 A
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 e	12.50 de	25.00 cde	31.25 cd	
12	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 e	16.67 de	50.00 bc	16.67 de	13.00 B
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 e	0.00 e	8.33 de	16.67 de	
24	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 e	8.33 de	31.25 cd	33.33 cd	B 11.00
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 e	0.00 e	de 8.33	0.00 e	
48	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 e	0.00 e	33.33 cd	8.33 de	7.29 B
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 e	0.00 e	0.00 e	16.67 de	
میانگین Mean		0.93 C	8.33 C	34.61 A	25.96 B	

† Means with the similar letters (small letters for interaction and capital letters for main effects) are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

† میانگین‌هایی که حرف‌های (حرف‌های کوچک برای برهمکنش‌ها و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) یکسانی دارند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

نتیجه‌ها نشان داد کاربرد غلظت بالاتر BA نسبت به 2,4-D (۴ به ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) در تیمارهای پینه-زایی، سبب شد پینه‌های به‌دست آمده از آن، در محیط کشت باززایی بتوانند باززایی بالاتری داشته باشند. همچنین این پینه‌ها در مرحله باززایی با غلظت بهینه BA (۲ میلی‌گرم در لیتر) باززایی مطلوبی نشان دادند. ولی پینه‌های حاصل از غلظت کم BA نسبت به 2,4-D (۰/۵ به ۴ میلی‌گرم در لیتر)، ضمن باززایی کم‌تر در مرحله باززایی، جهت تحریک شاخه‌زایی نیازمند کاربرد BA با غلظت بالاتر بودند. بنابراین به نظر می‌رسد نسبت سایتوکنین به اکسین به کار برده شده در این پژوهش جهت دستیابی به بالاترین مقدار باززایی ضروری می‌باشد. تمایز بافت پینه به نسبت اکسین به سایتوکنین در محیط کشت وابسته است و کم بودن این نسبت منجر به تشکیل شاخساره می‌شود (۲۸).

جدول ۳ برهمکنش BA و تیمارهای پینه‌زایی محیط کشت قبل، بر تعداد شاخه‌های باززایی شده از پینه‌های حاصل از رویان را نشان می‌دهد. بدون در نظر گرفتن سایر تیمارهای تنظیم کننده رشد، به طور کلی تعداد شاخه

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

در هر ریزنمونه با تیمار بذرها در محلول GA_3، نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. همچنین بدون در نظر گرفتن تیمارهای پینه‌زایی، کاربرد BA در مرحله باززایی سبب افزایش تعداد شاخه در هر ریزنمونه شد که این اختلاف در همه تیمارها نسبت به شاهد معنی‌دار بود. تعداد شاخه در هر ریزنمونه با کاربرد BA تا غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر افزایش (۵/۷۵) و در ۴ میلی‌گرم در لیتر کاهش (۴/۹۶) نشان داد که این اختلاف نسبت به شاهد (۰/۲۹) معنی‌دار بود.

برهمکنش تیمارهای پینه‌زایی، GA_3 و BA در مرحله باززایی نشان داد بیشترین تعداد شاخه در هر ریزنمونه (۱۶/۶) با ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D در مرحله پینه‌زایی و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در مرحله باززایی به‌دست آمد، که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها نشان داد. تعداد شاخه‌ها در غلظت بالاتر BA (۴ میلی‌گرم در لیتر) کاهش یافت. همچنین پینه‌های تشکیل شده در ۴ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D نسبت به پینه‌های به‌دست آمده از ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۴ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D تعداد شاخه بالاتری را تولید کردند (جدول ۳ و شکل ۱).

نتیجه‌های این آزمایش نشان داد استفاده از BA جهت اندام‌زایی از پینه ضروری است. کاربرد این سایتوکنین در اندام‌زایی پینه‌ها در *Prunus mume* (۲۲)، گلابی[۱] (۹)، *Citrus acida* Roxb (۱۲) و توت سیاه هندی[۲] (۲۶) مطلوب گزارش شده است، که با نتیجه‌های این آزمایش هم‌خوانی دارد. همچنین یانجون و همکاران (۳۲) با باززایی گیاه از ریزنمونه‌های رویان و لپه هلو عنوان کردند پینه‌های به‌دست آمده از ریزنمونه های رویان در محیط کشت دارای BA باززایی بهتری داشتند، در حالی که باززایی پینه‌های حاصل از ریزنمونه های لپه در محیط کشت دارای تیدیازورون (TDZ) بهتر بود. در باززایی گیاه از پینه‌های ریزنمونه‌های برگ در *Prunus serotina*، TDZ مؤثرتر از BA گزارش شده است (۱۴). همچنین پرز جیمنز و همکاران (۲۳) در باززایی رقم‌ها و پایه‌های هلو از پینه، بالاترین مقدار اندام‌زایی را در ۲ میلی‌گرم در لیتر BA در ترکیب با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آوردند. در پژوهش دیگری با کشت رویان‌های نابالغ هلو دو نوع پینه شکل گرفت؛ با انتقال پینه-های دانه‌دار و سفید رنگ به محیط کشت MS دارای ۴/۴ میکرومولار BA و ۰/۲۷ میکرومولار NAA بالاترین اندام‌زایی و بیشترین تعداد شاخه در هر ریزنمونه به‌دست آمد ولی پینه‌های زبر و سبز رنگ اندام‌زایی نشان ندادند (۱۷). فینی و همکاران (۱۵) نیز گزارش کردند با انتقال پینه‌های حاصل از کشت برگ گیلاس به محیط کشت MS با ۳ میکرومولار BA، ۱۰۰٪ پینه‌ها باززایی نشان دادند در حالی که بیشترین تعداد شاخه در هر ریزنمونه نیز در این تیمار به‌دست آمد.

۱- *Pyrus communis* L. ۲- *Morus indica* L. ۳- Yanjun

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

جدول ۳- برهمکنش BA و تیمارهای پینه‌زایی (تیمار GA_3 و ترکیب‌های تنظیم کننده‌های رشد مختلف) بر تعداد گیاه باززایی شده در هر ریزنمونه پینه GF677.

Table 3.Interaction of BA and callus regeneration treatments (GA3 and different plant growth regulators) on number of plants regeneration from callus explant of GF677 embryos.

جیبرلین GA_3(hr)	تنظیم کننده‌های رشد Plant growth regulators	بنزیل آدنین BA (mg 1^{-1}) 0	1	2	4	میانگین Mean
0	4 BA + 0.5 2,4-D	2.00 efg†	4.40 d	16.60 a	9.25 b	5.69 A
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 g	2.50 def	3.00 def	4.00 de	
12	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 g	2.50 def	7.00 c	7.66 bc	2.58 B
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 g	0.00 g	2.00 efg	2.33 ef	
24	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 g	1.00 fg	8.00 bc	8.33 bc	B 2.35
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 g	0.00 g	0.00 g	1.00 fg	
48	4 BA + 0.5 2,4-D	0.00 g	0.00 g	1.33 fg	1.00 fg	0.36 C
	0.5 BA + 4 2,4-D	0.00 g	0.00 g	0.00 g	1.00 fg	
میانگین Mean		0.29 D	1.54 C	5.75 A	4.96 B	

† Means with the similar letters (small letters for interaction and capital letters for main effects) are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

† میانگین‌هایی که حرف‌های (حرف‌های کوچک برای برهمکنش‌ها و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) یکسانی دارند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

تأثیر اکسین بر ریشه‌زایی شاخه‌های باززایی شده از پینه

نتیجه‌ها نشان داد که به طور کلی افزودن سه نوع اکسین به محیط کشت سبب افزایش درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه در هر شاخه و افزایش طول ریشه نسبت به شاهد شد (جدول ۴ و شکل ۲). در ارتباط با درصد ریشه‌زایی، اگرچه بالاترین درصد ریشه‌زایی (۹۷٪) با بهره‌گیری از IBA به‌دست آمد، اما اختلاف معنی‌داری بین سه نوع اکسین مشاهده نشد. بالاترین تعداد ریشه در هر شاخه (۷/۶۸) و طول ریشه در هر شاخه (۸۴/۷۰ میلی‌متر) با کاربرد IBA به‌دست آمد که اختلاف معنی‌داری را با NAA و IAA نشان دادند.

بالاترین تعداد ریشه در هر شاخه (۱۱/۶۷) با کاربرد ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد که به طور معنی‌داری بالاتر از شاهد و دیگر غلظت‌های به‌کار گرفته شده بود. در بهره‌گیری از NAA بیشترین تعداد ریشه در هر شاخه (۸/۲۰) با کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به‌دست آمد که به طور معنی‌داری از دیگر غلظت‌ها برتری داشت. اما در مورد IAA، غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر IAA بهترین بود که بالاترین تعداد ریشه در هر شاخه (۷/۵) را تولید کرد. همچنین بالاترین طول ریشه در هر شاخه (۱۳۰ میلی‌متر) با کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شد که به طور معنی‌داری بالاتر از شاهد و دیگر غلظت‌های به‌کار گرفته شده بود. در بهره‌گیری از NAA بیشترین طول ریشه در هر شاخه (۳۰/۴۰) با کاربرد ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد اما در مورد IAA، بالاترین تعداد ریشه در هر شاخه (۴۱/۴۰) در غلظت ۸ میلی‌گرم در لیتر IAA به‌دست آمد؛ اگرچه اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر غلظت‌ها و شاهد مشاهده نشد (جدول ۴).

به طور کلی درصد ریشه‌زایی، تعداد و طول ریشه در هر شاخه، در IBA با غلظت‌های کم، در NAA با غلظت‌های متوسط و در IAA با غلظت‌های زیاد بیشتر بود (جدول ۴). در تأیید با نتیجه‌های ما گزارش مشابهی توسط یانجون و همکاران (۳۲) ارائه شده است که با ریشه‌زایی شاخه‌های باززایی شده از پینه‌های حاصل از رویان‌های نابالغ در هلو در محیط کشت MS نیم قدرت با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA ریشه‌زایی مطلوبی گزارش کردند. نتیجه‌های این پژوهش نشان داد IBA در ریشه‌زایی شاخه‌های GF677 مؤثرتر از NAA و IAA بود.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

این نتیجه مشابه نتیجه‌های آنسلی و همکاران (۱۰) در ریشه زایی بادام رقم نپلوس اولترا است. IBA به طور معمول برای انگیزش آغازش ریشه استفاده می‌شود. IAA به‌طور سریع توسط نور تجزیه می‌شود. حرکت کند IBA در داخل بافت و همچنین تخریب دیرهنگام آن می‌تواند دلیل اصلی کارایی بهتر این اکسین در مقایسه با NAA و IAA باشد (۴، ۳۰). شاخص‌های ریشه‌زایی در غلظت‌های بالای IBA و NAA کاهش پیدا کردند. بازدارندگی اکسین در غلظت‌های بالاتر از غلظت بهینه به طور عمده به زیست ساختی اتیلن در اثر انگیزش اکسین نسبت داده می‌شود. اتیلن از از رشد ریشه جلوگیری می‌کند (۳۰).

جدول ۴- اثر غلظت‌های مختلف اکسین بر شاخص‌های ریشه‌زایی شاخه‌های حاصل از پینه.

Table 4. Effect of different concentrations of auxin on rooting characteristics of shoots obtained from callus.

اکسین Auxin (mg l^{-1})	درصد ریشه زایی Rooting (%)		تعداد ریشه Root number		طول ریشه Root length (mm)	
		میانگین Mean		میانگین Mean		میانگین Mean
شاهد Control	29 b †	29 B	0.71 i	0.71 C	1.67 f	1.67 C
IBA						
0.5	100 a		4.57 fg		74.43 bcd	
1	100 a		11.67 a		85.50 b	
2	100 a		9.80 b		130.00 a	
4	100 a		6.33 de		60.17 b-e	
8	80 a		6.50 de		80.67 bc	
		97 A		7.68 A		84.70 A
NAA						
0.5	83 a		3.33 gh		23.00 ef	
1	100 a		4.57 fg		30.40 def	
2	100 a		8.20 c		9.25 f	
4	80 a		5.50 ef		11.25 f	
8	67 ab		4.00 fg		15.40 ef	
		87 A		5.03 B		17.33 BC
IAA						
0.5	67 ab		2.17 hi		38.00 c-f	
1	67 ab		3.17 gh		41.00 b-f	
2	100 a		4.33 fg		32.00 def	
4	100 a		6.50 de		36.50 c-f	
8	100 a		7.50 cd		41.40 b-f	
		87 A		4.73 B		37.69 B

† Means in each column with the similar letters (small letters for treatments and capital letters for mains) are not significantly different at 5% level of probability using DMRT.

† میانگین‌هایی که حرف‌های (حرف‌های کوچک برای برهمکنش‌ها و حرف‌های بزرگ برای اثرهای اصلی) یکسانی دارند در سطح احتمال ۵٪ آزمون چند دامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌دار ندارند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

الف ب پ ت ث

A B C D E

Fig. 2. The process of rooting and acclimatization of plantlet of indirect organogenesis from GF677 embryo culture. A: shoot rooting in IBA. B: shoot rooting in NAA. C: shoot rooting in IAA. D: plantlets during acclimation. E: acclimatized plantlets in soil mix (peat, perlite, sand).

شکل ۲- مرحله‌های ریشه‌زایی و سازگاری گیاهک‌های حاصل از اندام‌زایی غیرمستقیم از رویان GF677. الف: ریشه‌زایی در تیمار IBA. ب: ریشه‌زایی در تیمار NAA پ: ریشه‌زایی در تیمار IAA. ت: گیاهک‌های در حال سازگاری، ث: گیاهک های سازگار شده در ترکیب خاکی (پیت، پرلایت، ماسه).

پایه GF677 بسیار سخت ریشه‌زا است و پژوهش‌های متعدد در این زمینه در کشت درون شیشه‌ای تنها توانسته‌اند ریشه‌زایی آن را به مقدار محدودی افزایش دهند. ریشه‌زایی بسیار بالایی که در این پژوهش به‌دست آمد می‌تواند بیان‌گر این باشد که این روش باززایی، قابلیت ریشه‌زایی شاخه‌های تولید شده را نیز بسیار بالا برده است.

سازگاری

گیاهک‌های ریشه‌دار شده حاصل از باززایی پینه با طی مرحله‌های سازگاری بعد از ۳۰ روز با ۸۵٪ موفقیت به گلخانه منتقل شدند. مرحله سازگاری و گیاهک‌هایی که سازگارشده اند در شکل ۲- ت و ث نمایش داده شده است.

نتیجه‌گیری

این گزارش دستورکار کاملی از باززایی موفق گیاه ازGF677 به روش اندام‌زایی غیرمستقیم از ریزنمونه‌های رویان بود. همه مرحله‌های پینه‌زایی، اندام‌زایی از پینه، ریشه‌زایی شاخه‌ها و سازگاری گیاهک‌های به‌دست آمده در طول مدت بیشینه ۶ ماه قابل انجام است. این روش باززایی گامی مؤثر در جهت توسعه و آسان مطالعه‌های انتقال ژن به منظور بهبود ویژگی‌های پایه GF677 می‌باشد و همچنین امکان گزینش رگه‌های متحمل به عامل‌های زنده و غیرزنده در این پایه را فراهم می‌کند.

منابع References

۱. چایچی، س.، ن. حسن زاده، م. مشهدی و آ. بای بوردی. ۱۳۸۱. راهنمای بادام. انتشارات نشر آموزش کشاورزی. تهران. ۱۷۲ ص.

۲. خوشخوی، م. ۱۳۷۷. فنون کشت بافت برای گیاهان باغبانی. انتشارات دانشگاه شیراز (برگردان). شیراز. ۴۳۶ ص.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

۳. رادنیا، ح. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه. انتشارات نشر آموزش کشاورزی (برگردان). تهران. ۶۳۷ ص.

۴. زارعی، م.، ق. گروسی، ا. نظامی، ر. حسینی و ج. احمدی. ۱۳۹۲. تاثیر محیط کشت، منبع کربن و طیف نور در نوساقه زایی و شیوه تیمار اکسین در ریشه زایی پایه رویشی 'Gisela 7'. مجله سلول و بافت. ۱۸۵-۱۶۹: ۲.

۵. علیزاده، ا. و و. گرگوریان. ۱۳۸۰. بررسی ریشه زایی قلمه های نیمه چوبی دورگه هلو بادام در شرایط مه افشان. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۱۵۴- ۱۴۳: ۲.

۶. علیزاده، م. ۱۳۹۰. راهنمای کاربران کشت بافت گیاهی و ریزازدیادی. انتشارات نوروزی. گلستان. ۳۳۰ ص.

۷. قاسمی، ا.، ح. ایزدی و و. معصومی فر. ۱۳۸۹. کشت و پرورش بادام (کاشت، داشت و برداشت). انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. تهران. ۳۵۵ ص.

۸. نظامی آلانق، ا.، ق. گروسی، ر. حداد و م. بابایی. ۱۳۸۹. مطالعه تاثیر پکتین، نوع محیط کشت و تنظیم کننده های رشد گیاهی در ازدیاد پایه هیبرید GF677 در شرایط کشت درون شیشه ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی. ۱: ۱۲۶-۱۱۳.

9. Abdollahi, H., R. Muleo and E. Rugini. 2006. Optimisation of regeneration and maintenance of morphogenic callus in pear (*Pyrus communis* L.) by simple and double regeneration techniques. Sci. Hortic. 108:352-358.

10. Ainsley, P.J., G.G. Collins and M. Sedgley. 2001. *In vitro* rooting of almond (*Prunus dulcis* Mill.). In Vitro Cell Dev. Biol. Plantarum 37:778-785.

11. Arteca, R.N. 1996. "Plant Growth Substances: Principles and Applications. Springer Science+Business Media Dordrecht. 332 p.

12. Chakravarty, B. and B. Goswami. 1999. Plantlet regeneration from long-term callus cultures of *Citrus acida* Roxb. and the uniformity of regenerated plants. Sci. Hortic. 82:159-169.

13. Chawla, H. 2000. Introduction to Plant Biotechnology. Science Publishers, Inc. Enfield, NH, USA. 368 p.

14. Espinosa, A.C., P.M. Pijut and C.H. Michler. 2006. Adventitious shoot regeneration and rooting of *Prunus serotina in vitro* cultures. HortScience 41:193-201.

15. Feeney, M., B. Bhagwat, J.S. Mitchell and W.D. Lane. 2007. Shoot regeneration from organogenic callus of sweet cherry (*Prunus avium* L.). Plant Cell Tiss. Org. Cult. 90:201-214.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

16. Fotopoulos, S. and T. Sotiropoulos. 2005. *In vitro* rooting of PR 204/84 rootstock (*Prunus persica* x *P. amygdalus*) as influenced by mineral concentration of the culture medium and exposure to darkness for a period. Agron. Res. 3:3-8.
17. Hammerschlag, F., G. Bauchan and R. Scorza. 1985. Regeneration of peach plants from callus derived from immature embryos. Theor. Appl. Genet. 70:248-251.
18. Hokanson, K.E. and M.R. Pooler. 2000. Regeneration of ornamental cherry (*Prunus*) taxa from mature stored seed. HortScience 35:745-748.
19. Hooker, M.P. and M.W. Nabors. 1977. Callus initiation, growth and organogenesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). Z. Pflanzenphysiol. 84:237-246.
20. Kester, D.E. 1970. Growth *in vitro* of tissue of almond, almond hybrids and some other *Prunus*. HortScience 5: 349.
21. Ning, G.G. and M.Z. Bao. 2007. Plant regeneration from callus derived from immature embryo cotyledons of *Prunus mume*. HortScience 42:744-747.
22. Ning, G.G., S.P. Bai, M.Z. Bao and L. Liu. 2007. Factors affecting plantlet regeneration from *in vitro* cultured immature embryos and cotyledons of *Prunus mume* 'Xue mei'. In Vitro Cell Dev. Biol. Plant 43:95-100.
23. Pérez-Jiménez, M., A. Carrillo-Navarro and J. Cos-Terrer. 2012. Regeneration of peach (*Prunus persica* L. Batsch) cultivars and *Prunus persica* × *Prunus dulcis* rootstocks via organogenesis. Plant Cell Tiss. Org. Cult. 108:55-62.
24. Pooler, M. and R. Scorza. 1995. Regeneration of peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] rootstock cultivars from cotyledons of mature stored seed. HortScience 30:355-356.
25. Ruzic, D., P. Rosati and G. Marino. 1984. The effect of growth regulators in the micro-propagation of peach x almond hybrid GF677. Riv. Delia Ort Frutic. Ital. 68:413-422.
26. Sahoo, Y., S. Pattnaik and P. Chand. 1997. Plant regeneration from callus cultures of *Morus indica* L. derived from seedlings and mature plants. Sci. Hortic. 69:85-98.
27. Sepahvand, S., A. Ebadi, K. Kamali and S.A. Ghaemmaghami. 2012. Effects of myo-inositol and thiamine on micropropagation of GF677 (peach×almond hybrid). J. Agr. Sci. 4:275-280.
28. Skoog, F. and C.O. Miller. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured. In vitro. Symp. Soc. Exp. Biol. 11:118-131.
29. Tabachnik, L. and D.E. Kester. 1977. Shoot culture for almond and almond peach hybrid clones *in vitro*. HortScience 12:545-547.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

30. Taiz, L. and E. Zeiger. 2006. Secondary metabolites and plant defense. Plant Physiol. 4:315-344.

31. Tsipouridis, C. and T. Thomidis. 2003. Methods to improve the *in vitro* culture of GF677 (peach×almond) peach rootstock. N.Z. J. Crop Hort. Sci. 31:361-364.

32. Yanjun, W., Z. Shanglong, X. Ming, C. Junwei, Q. Yonghua and Q. Qiaoping. 2005. Plantlets regeneration from immature embryos and cotyledons of peach. Sci. Silvae Sin. 41: 45.

33. Ye, X., S.K. Brown, R. Scorza, J. Cordts and J.C. Sanford. 1994. Genetic transformation of peach tissues by particle bombardment. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 119:367-373.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 17 (1): 89-102 (2016)

Callus Induction and Plant Regeneration from Embryo Culture in GF677 Rootstock

M. Arab and A. Shekafandeh[*1]

In this research, complete micropropagation protocol of GF677 has been described by indirect organogenesis from embryo culture. In order to break the chilling requirement, mature seeds after disinfection were treated with 250 mg^{-1} of sterile solution of GA_3 for different periods of time (0, 12, 24, 48, 96 h). Then, embryo explants separated carefully from the seeds and for callus induction were cultured in factorial experiment on Murashige and Skoog medium (MS) supplemented with different growth regulator treatments. The results showed, only in the presence of 2,4-D and BA, GA_3 treatment increased callus induction of explants. Calluses were transferred on medium containing BA (0.0, 1.0, 2.0 and 4.0 mg^{-1}) with 0.25 mg^{-1} NAA and 0.25 mg^{-1} IBA. The highest percentage rate of regeneration (90%) and the highest shoot number, (16.60) per explant were obtained in the presence of 2.0 mg^{-1} BA. Seeds treatment with GA_3 at this stage reduced regeneration of shoots from callus. For rooting of regenerated shoots, the effect of three types of auxin IBA, NAA and IAA in different concentrations (0.0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 8.0 mg^{-1}) on 1/2MS medium were studied. The highest rooting index was observed in the presence of IBA. Rooted plantlets after transferred to the soil mixture (peat, perlite and sand, 2: 2: 1) acclimatized with 85% success in greenhouse condition.

Key Words: Peach/ almond hybrid, *In vitro* culture, Organogenesis, Tissue culture.

1 M.Sc. Student and Associate Professor of Horticulture, College of Agreculture, Shiraz University, Shiraz, I.R.Iran, respectively.
* Corresponding author,Email: (shekafan@shirazu.ac.ir)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-01-30]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1395.17.1.8.4]