مقاله پژوهشی

بررسی قابلیت ریزازدیادی تعدادی از پایه‌های امیدبخش هیبرید سیب

داریوش آتشکار[1]*، مریم دودانگه‌بالاخانی[2] و امیرعباس تقی‌زاده[3]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۵/۲- تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۲/۱۰)

چکیده

در این تحقیق قابلیت ریزازدیادی ۴ پایه امیدبخش سیب AR11، AR10، AR4،AR8 و رقم آزایش اصفهان بررسی شد. بدین صورت که ریزنمونه‌های تهیه شده از پایه‌های گزینش شده در شرایط درون‌شیشه‌ای مستقر و طی دو مرحله آزمایش نسبت به انتخاب محیط کشت برتر این پایه‌ها اقدام شد. در آزمایش اول پس از استقرار دادن نمونه‌ها در محیط کشت ۱/۲MS اثر تیمارهای تنظیم‌کننده رشد BAP در چهار سطح نیم، یک، یک و نیم و دو میلی‌گرم بر لیتر بر میزان پُرآوری نمونه‌ها و در آزمایش دوم ریشه‌زایی پایه‌ها با دو نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی شامل: ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA و ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA بررسی شد. بیشترین تعداد شاخه در ژنوتیپ هیبرید AR10 و تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با میانگین ۹/۲۶ شاخه، بیشترین طول شاخه در ژنوتیپ هیبرید AR8 و تیمار هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیترBAP با میانگین طول ۲/۸۰ سانتی‌متر، بیشترین وزن‌تر شاخه‌ها در ژنوتیپ آزایش اصفهان و تیمار هورمونی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP با میانگین وزن تر ۰/۶۸ گرم، بیشترین تعداد و طول ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید AR11 و تیمار هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA با میانگین ۱۰/۳۳ ریشه و میانگین طول ۹/۳۳ سانتی‌متر بود. در بین ژنوتیپ پایه‌های مورد بررسی ژنوتیپ پایه‌های هیبرید AR11 و AR10 با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA نسبت به سایر ژنوتیپ پایه‌ها شاخه‌زایی و ریشه‌زایی بهتری داشتند.

کلمات کلیدی: استقرار، آزایش، ریشه‌زایی، شاخه‌زایی، هیبرید

۱- استادیار پژوهشی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲- کارشناس‌ارشد مهندسی باغبانی، پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۳- دانشجو- پژوهشگر دورهٔ پسادکتری، گروه مهندسی ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی(ره)، قزوین، ایران.

* پست الکترونیک: datashkar2002@yahoo.com

مقدمه

سیب یکی از مهم‌ترین محصولات باغبانی مناطق معتدله در ایران است. سطح زیرکشت آن بیش از ۲۷۰ هزار هکتار و تولیدی معادل ۳ میلیون تُن در سال برآورد شده است (آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۹). از یک قرن پیش تاکنون روند توسعه صنعت سیب‌کاری در دنیا از احداث باغ‌های استاندارد و پایه‌های بذری به‌طرف استفاده از پایه‌های پاکوتاه و باغات متراکم تغییر یافته است (خانی‌زاده[1] و همکاران، ۲۰۰۵). هر کشور با توجه به شرایط اقلیمی خود دارای پایه‌های رویشی خاصی می‌باشد، در بسیاری از کشورهای میوه‌خیز برنامه‌های دورگ‌گیری بین ژنوتیپ‌های بومی خود و پایه‌های بین‌المللی اجرا شده است و پایه‌های متناسب با اقلیم خود به دست آورده‌اند (خانی‌زاده و همکاران، ۲۰۰۵). در ارزیابی‌های مقدماتی نتاج جهت گزینش پایه رویشی سیب با قابلیت تکثیر رویشی آسان از مجموع ۳۰۳۲ دانهال، تعداد ۲۷ ژنوتیپ با قابلیت تکثیر رویشی آسان انتخاب شدند (آتشکار و همکاران، ۱۳۹۵). در پژوهشی دیگر صفات رویشی مرتبط با قدرت رشد در تعداد ۱۱ ژنوتیپ امیدبخش پایه سیب به همراه پایه رویشی سیب MM111 به‌عنوان شاهد بررسی شد. بر اساس قدرت رشد ژنوتیپ‌های AR4, AR8, AR11 دارای کمترین بیوماس، کمترین سرعت رشد، بیشترین تراکم روزنه در واحد سطح برگ و بیشترین نسبت وزن خشک ریشه به شاخساره بود، بنابراین دارای بیشترین شاخص پاکوتاه‌کنندگی نسبت به سایر ژنوتیپ پایه‌ها بودند (آتشکار و همکاران، ۱۳۹۷). ارزیابی تحمل به خشکی برخی پایه‌های هیبرید سیب نشان داد، کمترین کاهش در تبادلات روزنه‌ای و فتوسنتز تحت تنش خشکی در ژنوتیپ پایه‌هایAR1, AR4, AR8, AR11 مشاهده شد (آتشکار و همکاران ۱۳۹۷، ۱۳۹۹). مهم‌ترین ویژگی پایه‌های رویشی قابلیت افزایش رویشی آنها می‌باشد. اگر ژنوتیپ‌های انتخابی به تنش‌های مختلف مقاوم باشد اما قابلیت افزایش رویشی نداشته باشد، باید در مرحله اول غربال شود (الوینگ[2] و همکاران، ۱۹۹۳؛ فیشر[3]، ۱۹۹۶). با هدف بهینه‌سازی شرایط ازدیاد درون‌شیشه‌ای پایه سیب MM111 و بررسی اثر محیط‌های کشت پایه، تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مختلف بر پرآوری و ریشه‌زایی آن انجام گردید. بر اساس نتایج بدست آمده، BAP در افزایش میزان پرآوری، تعداد گره و کاهش طول میانگره موثرتر از TDZ بود. حداکثر میزان پرآوری ۸/۶۶ ریزشاخه در ۴/۴ میکرومولار BAP مشاهده گردید و بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۲/۶۵ ریشه به ازای هر ریزنمونه در محیط کشت MS به‌همراه ۸/۰۵ میکرومولار NAA مشاهده گردید (نصیرکندی و همکاران، ۱۳۹۶). روستایی[4] و همکاران (۲۰۰۷) بهینه‌سازی باززایی درون‌شیشه‌ای پایه بومی پاکوتاه سیب گمی‌آلماسی را از طریق اندام‌زایی مستقیم از بافت برگ‌های کشت بافتی گزارش کردند. محیط کشت MS حاوی ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA برای باززایی مناسبترین بود. تأثیر نوع ژنوتیپ بر افزونگری شاخساره‌های سیب توسط محققین مختلف تشریح شده است. لَن و لونی[5] (۱۹۸۲) بر روی افزونگری شاخساره چهار نوع سیب (M27, M9, M26, Macspur) مطالعه کردند و دریافتند که ارقام در واکنش به غلظت سایتوکنین ۶-بنزیل‌آمینوپورین (BA) در محیط کشت اختلاف دارند، مقدار مناسب BA برای نمو حداکثر تعداد شاخساره‌ها در بین ارقام متفاوت بود. لَن و مک‌داگالد[6] (۱۹۸۲) بر روی سه نژاد از سیب مک‌اینتاش[7] در شرایط درون‌شیشه‌ای مطالعه کردند و دریافتند که مناسب‌ترین مقدار BA (۳-۶ میکرومول) برای همه نژادها جهت حداکثرپرآوری شاخساره مشابه می‌باشد. اما تحمل آن‌ها به غلظت‌های بیشتر از بهینه (۱۰ میکرومول) BA متفاوت می‌باشد، تولید شاخساره‌های جدید به صورت درصد، نسبت به غلظت‌های مناسب BA به‌ترتیب ۹۰٪ برای نژاد بسیار متراکم، ۲۰٪ برای متراکم و ۰٪ برای نژاد استاندارد بود.

وبستر و جانز[8] (۱۹۹۱) اختلاف در تولید شاخساره‌های چهار پایه سیب را گزارش کردند. شاخساره در پایه‌های P22 و Ottawa3 به آسانی تولید شد هرچند برای پایه‌های P2 و B9 تولید شاخساره بسیار مشکل بود. اما با افزایش غلظت BA از ۱ به ۲ میلی‌گرم در لیتر شاخه‌زایی بهبود یافت. مقایسه برای افزونگری شاخساره در ده رقم

1. Khanizadeh
2. Eleving
3. Fisher
4. Rustaee
5. Lane and Looney
6. Lane and McDougald
7. McIntosh
8. Webster and Jones

پیوندک، دوپایه و *Malus prunifolia xanthocarpa* در سال ۱۹۹۴ توسط یپس و آلدوینکل[1] انجام گرفت و دریافتند نسبت افزونگری و طول شاخه‌ها به شدت تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد. دوبرانسکی[2] و همکاران (۲۰۰۰) واکنش ارقام سیب Prima, Galaxy, Jonagold و پایه‌های M26, MM106, JTE-H به مواد تنظیم‌کننده رشد در محیط کشت بررسی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد واکنش ارقام و پایه‌های مختلف نسبت به مواد تنظیم کننده رشد به طور معنی‌دار متفاوت می‌باشد. در این پژوهش نیز تأثیر محیط شاخه‌زایی و ریشه‌زایی بر ازدیاد درون‌شیشه‌ای ۴ ژنوتیپ پایه سیب متحمل به تنش خشکی حاصل از برنامه به‌نژادی پایه‌های رویشی سیب در ایران به‌همراه سیب بومی رقم آزایش اصفهان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در این تحقیق قابلیت ریزازدیادی چهار ژنوتیپ پایه امید بخش سیب متحمل به خشکی حاصل از پروژه اصلاح پایه‌های رویشی سیب در ایران AR4, AR8, AR10, AR11 به همراه رقم آزایش اصفهان بررسی شد (جدول۱). بدین صورت که ریزنمونه‌های تهیه شده از جوانه شاخه‌های فصل جاری پایه‌های گزینش شده در بازه‌های زمانی مختلف اردیبهشت، تیر و مهرماه تهیه نموده، پس از شستشو با آب و مایع ظرفشویی و اسپری با الکل۷۰٪ در وایتکس ۲۵٪ غوطه‌ور نموده و به‌مدت ۵ دقیقه در شیشه نگهداشته شد. پس از شستشو کامل با آب مقطر، مجددا نمونه‌ها را در محلول کلریدجیوه (۰/۰۱ گرم کلریدجیوه در ۱۰۰ سی‌سی آب مقطر) و تحت خلا به‌مدت ۵ دقیقه قرار داده شد و در نهایت با استفاده از آب مقطر استریل شده (استریل شده با اتوکلاو) ریزنمونه‌ها آبکشی و آماده شد. پس از استریل، ریزنمونه‌ها در شرایط درون‌شیشه‌ای مستقر و طی دو مرحله آزمایش نسبت به انتخاب محیط کشت برتر این پایه‌ها اقدام شد. در آزمایش اول پس از استقرار دادن نمونه‌ها بر روی محیط MS ۱/۲ (موراشیگ و اسکوگ[3]، ۱۹۶۲) اثر تیمارهای تنظیم‌کننده رشد BAP بر میزان پرآوری نمونه‌ها و در آزمایش دوم شرایط ریشه‌زایی پایه‌ها ۴۵ روز بعد در تیمارهای نوع محیط ریشه‌زایی نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی بررسی شد. تمام ریزنمونه‌ها در محیط کشت ۱/۲MS حاوی PVP استقرار داده شدند و پس از استقرار به اتاق رشد با دمای ۲۵-۲۴ درجه سانتی‌گراد و با شدت نور ۷۳ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و با دورهٔ ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی انتقال داده شدند. زمان لازم برای رسیدن به مرحله جوانه‌زنی ریزنمونه‌ها ۲ الی ۳ هفته و زمان لازم برای رسیدن به مرحله واکشت حدوداً ۴۵-۴۰ روز در شرایط اتاق رشد بود. پس از فاز استقرار، گیاهچه‌ها جهت تست پرآوری به محیط کشت ۱/۲MS حاوی BAP در چهار سطح، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر در سه تکرار برای هر تیمار و به تعداد ۵ گیاهچه در هر شیشه انتقال یافته و به‌مدت ۴۲ روز در اتاق رشد قرار گرفتند. سپس گیاهچه‌ها پس از شاخه‌زایی از محیط خارج نموده و تعداد شاخه، طول شاخه، وزن‌تر و خشک شاخه‌های تولید شده اندازه‌گیری و ثبت گردید. پس از بررسی تیمار شاخه‌زایی از شاخه‌های تولیدی با ۴ گره (طول حدود ۴ سانتی‌متر) در سه تکرار و در هر تکرار به تعداد ۵ شاخه در هر شیشه جهت آزمایش ریشه‌زایی به محیط ۱/۲MS حاوی هورمون‌های ریشه‌زایی شامل: ۱و۲ میلی‌گرم بر لیتر IBA، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر NAA منتقل شدند و پس از ۴۰ روز تعداد، طول، وزن‌تر و خشک ریشه اندازه‌گیری و ثبت گردید. کلیه آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با دو فاکتور (نوع محیط و نوع پایه) انجام شد. در پایان تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که نمونه‌های تهیه شده در طول بهار و تابستان فنل‌زایی قوی داشته بر روی محیط MS استقرار مناسبی نداشتند، اما نمونه‌گیری در مهر ماه و استفاده از محیط ۱/۲MS حاوی PVP باعث جوانه‌زنی ریزنمونه‌ها و استقرار مناسب در محیط کشت گردید (جدول۲). پس از استقرار ریزنمونه‌ها در محیط کشت و رشد به محیط شاخه‌زایی انتقال یافته و تیمارهای مختلف شاخه‌زایی اعمال گردید.

1. Yepes and Aldwinckle
2. Dobránszki
3. Murashige and Skoog

جدول۱- اطلاعات شجره‌ای پایه‌های سیب مورد مطالعه

ژنوتیپ پایه	شجره
AR4	Obtained Frome Open Pollination of M9 Rootstock
AR8	Hybrid Between Azayesh Genotype and B9
AR10	Hybrid Between Azayesh Genotype and M27
AR11	Hybrid Between Morabaee Genotype and M9
Azayesh Isfahan	Native Genotype

جدول۲- مقایسه تأثیر فصل نمونه‌گیری و محیط کشت بر درصد استقرار ریزنمونه ژنوتیپ پایه‌های سیب

ژنوتیپ	فصل و محیط استقرار	
	MS (بهار و تابستان)	½ MS+PVP (پاییز)
AR11	٪۵	٪۸۰
AR10	٪۳	٪۷۸
AR8	٪۲	٪۶۸
AR4	٪۷	٪۸۵
آزایش	٪۱۰	٪۹۰

نتایج تیمار شاخه‌زایی

موفقیت در هر پروتکل کشت بافتی به تعداد شاخه‌های تولید شده در محیط درون‌شیشه‌ای بستگی دارد. کارایی تولید شاخه نیز به فاکتورهای متعددی از قبیل ژنوتیپ، ترکیب محیط کشت، مواد تنظیم‌کننده رشد و غیره وابسته است. نتایج نشان داد به لحاظ صفات شاخه‌زایی شامل تعداد، طول، وزن‌تر و خشک شاخه‌های تولید شده، بین ژنوتیپ پایه‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح ۱ درصد مشاهده شد. تیمارهای هورمونی به لحاظ طول شاخه و اثر متقابل نوع ژنوتیپ پایه و تیمار هورمونی از نظر تعداد و وزن‌تر شاخه در سطح ۱ درصد تفاوت معنی‌دار نشان داده است (جدول۳).

جدول۳- تجزیه واریانس شاخه‌زایی ژنوتیپ پایه‌های سیب تحت تأثیر تیمارهای مختلف شاخه‌زایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد شاخه	طول شاخه	وزن تر شاخه	وزن خشک شاخه
ژنوتیپ	۴	۱۶/۱۵**	۲/۲۹**	۰/۰۷**	۰/۰۰۳**
تیمار شاخه‌زایی	۳	۲/۶۰ns	۰/۸۸**	۰/۰۰۴ns	۰/۰۰۱ns
تیمار شاخه‌زایی× ژنوتیپ پایه	۱۲	۵/۷۵**	۰/۱۸ns	۰/۰۲۹**	۰/۰۰۱ns
خطای آزمایشی	۴۰	۲/۰۶	۰/۱۸	۰/۰۱۱	۰/۰۰۰۷

nsو **: به‌ترتیب اختلاف غیرمعنی‌دار و اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ٪۱

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین شاخه تولیدی با میانگین ۶/۶۵ شاخه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ آزایش اصفهان با تعداد ۳/۶۶ شاخه بوده است. سایر ژنوتیپ‌ها در حدواسط این دو قرارگرفته و تفاوت معنی‌داری نشان ندادند. بیشترین طول شاخه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR8) با میانگین طول ۲/۳۱ سانتی‌متر و کوتاه‌ترین شاخه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) با میانگین طول ۰/۸۸ سانتی‌متر بود. بیشترین وزن‌تر و خشک شاخه به ترتیب با میانگین ۰/۵۵ و ۰/۱۰ گرم در ژنوتیپ هیبرید (AR8) و کم‌ترین وزن‌تر مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) با میانگین ۰/۳۶ و ۰/۰۷گرم بود (جدول۴).

تیمارهای مختلف هورمونی شاخه‌زایی (غلظت BAP) به لحاظ طول شاخه، تفاوت معنی‌داری نشان داد. بیشترین طول شاخه با میانگین ۲/۰۵ سانتی‌متر در تیمار (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) وکوتاه‌ترین طول شاخه در تیمار هورمونی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با ۱/۴۹ سانتی‌متر مشاهده شد. وزن‌تر و خشک شاخه‌های تولیدی در تیمارهای مختلف هورمونی شاخه‌زایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد (جدول۵).

جدول۴- مقایسه میانگین شاخه‌زایی ژنوتیپ پایه‌های سیب

ژنوتیپ	تعداد شاخه	طول شاخه (cm)	وزن تر شاخه(gr)	وزن خشک شاخه(gr)
AR11	۶/۶۵^{a}	۰/۸۸^{c}	۰/۳۶^{c}	۰/۰۷^{b}
AR10	۶/۰۳^{ab}	۱/۸۵^{ab}	۰/۳۹^{bc}	۰/۰۷^{b}
AR8	۵/۲۰^{abc}	۲/۳۱^{a}	۰/۵۵^{a}	۰/۱۰^{a}
AR4	۴/۷۰^{bc}	۱/۶۴^{b}	۰/۴۵^{abc}	۰/۰۹^{ab}
آزایش	۳/۶۶^{c}	۱/۸۸^{ab}	۰/۵۱^{ab}	۰/۰۸^{ab}

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

جدول ۵- مقایسه میانگین شاخه‌زایی در تیمارهای مختلف هورمون شاخه‌زا

تیمار	تعداد شاخه	طول شاخه(cm)	وزن تر شاخه(gr)	وزن خشک شاخه(gr)
BAP (۰/۵ میلی گرم در لیتر)	۵/۵۴^{a}	۲/۰۵^{a}	۰/۴۳^{a}	۰/۰۹۹^{a}
BAP (۱ میلی گرم در لیتر)	۵/۶۲^{a}	۱/۷۲^{ab}	۰/۴۷^{a}	۰/۰۹۳^{a}
BAP (۱/۵ میلی گرم در لیتر)	۵/۰۹^{a}	۱/۴۹^{b}	۰/۴۴^{a}	۰/۰۷۹^{a}
BAP (۲ میلی گرم در لیتر)	۴/۷۳^{a}	۱/۵۹^{b}	۰/۴۷^{a}	۰/۰۸۱^{a}

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه و غلظت هورمون شاخه‌زایی (BAP) برتعداد شاخه‌های تولید شده در محیط درون‌شیشه‌ای نشان داد، در بین ترکیب ژنوتیپ و غلظت‌های مختلف هورمونی آزمایش شده بیشترین تعداد شاخه تولید شده مربوط به ژنوتیپ هیبریدهای (AR10) (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین ۹/۲۶ شاخه و (AR11) (۱ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین ۷/۷۳ شاخه بود و کم‌ترین تعداد شاخه مربوط به ژنوتیپ آزایش اصفهان با (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) و میانگین ۳/۰۶ شاخه بوده است (نمودار۱).

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه و غلظت هورمون شاخه‌زایی (BAP) بر طول شاخه‌های تولید شده نشان داد، بیشترین طول شاخه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR8) و تیمار هورمونی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین طول ۲/۸۰ سانتی‌متر و کوتاه‌ترین شاخه در ژنوتیپ هیبرید (AR11) و تیمار هورمونی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین طول ۰/۴۰ سانتی‌متر بود (نمودار۲). بین تعداد شاخک‌های تولیده شده با طول شاخک‌ها رابطه عکس وجود داشت (نمودار۱و۲، شکل۱). مقایسه میانگین اثرمتقابل ژنوتیپ پایه و غلظت هورمون شاخه‌زایی (BAP) بر وزن‌تر شاخه‌ها نشان داد، بیشترین وزن‌تر شاخه‌ها در ژنوتیپ آزایش اصفهان و تیمار هورمونی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین وزن ۰/۶۸گرم، ژنوتیپ هیبرید (AR8) و تیمار هورمونی (۲میلی‌گرم در لیتر BAP) با وزن‌تر ۰/۶۰گرم و کم‌ترین آن در ژنوتیپ هیبرید (AR11) و تیمار هورمونی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) با وزن ۰/۲۷ گرم، بود (نمودار۳). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه و غلظت هورمون شاخه‌زایی (BAP) بر وزن خشک شاخه‌ها نشان داد، بیشترین وزن خشک شاخه‌ها در ژنوتیپ (AR4) و تیمار هورمونی (۱ میلی‌گرم در لیتر BAP) با میانگین وزن خشک ۰/۱۲ گرم و کمترین آن در ژنوتیپ هیبرید (AR11) و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر BAP) با وزن ۰/۰۵۱ گرم بود.

نتایج این پژوهش با سایر تحقیقات انجام گرفته در خصوص ریزازدیادی پایه‌های سیب مطابقت دارد. اول اینکه شاخه‌زایی ریزنمونه‌ها بستگی به نوع ژنوتیپ دارد. نسبت افزونگری و طول شاخساره‌های جدیدی که رشد می‌کنند به شدت تحت تأثیر ژنوتیپ می‌باشد (دوبرانسکی و همکاران، ۲۰۰۰). دوم افزایش غلظت هورمون‌های شاخه‌زا تا حدودی بر شاخه‌زایی موثر است و پس از آن اثر معکوس دارد. بودابوس[1] و همکاران (۲۰۱۰) غلظت‌های

1. Boudabous

مختلف هورمون BAP را بر میزان شاخه‌زایی پایه سیب رقم Doce de Djerba آزمایش کردند و نتیجه گرفتند بیشترین تعداد شاخه در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر حاصل می‌شود و با افزایش غلظت هورمون به ۴ میلی‌گرم در لیتر رشد شاخه‌های تولید شده در محیط شاخه‌زایی کاهش چشمگیری می‌یابد. لَن و مک‌داگالد (۱۹۸۲) بر روی افزونگری شاخساره چهار نوع سیب (M27, M9, M26,Macspur) مطالعه کردند و دریافتند مقدار مناسب BA برای نمو حداکثر تعداد شاخساره‌ها در بین ارقام متفاوت بود. لَن و لونی (۱۹۸۲) بر روی سه نژاد از سیب مک‌اینتاش (استاندارد، متراکم و بسیار متراکم) در شرایط درون‌شیشه‌ای مطالعه کردند و دریافتند تحمل ارقام به غلظت‌های بیشتر از (۱۰ میکرومول) BA متفاوت می‌باشد و با الگوی رشدی آن‌ها در شرایط طبیعی ارتباط دارد. بررسی‌ها نشان داد، تأثیر BAP در افزایش میزان پرآوری، تعداد گره و کاهش طول میانگره موثرتر از TDZ بود و حداکثر میزان پرآوری ۸/۶۶ ریزشاخه در۴/۴ میکرومولار BAP مشاهده گردید (نصیرکندی و همکاران ۱۳۹۶).

نتایج ریشه‌زایی

تکثیر، پرآوری و ریشه‌زایی شاخساره در کشت درون شیشه‌ای تحت تأثیر عوامل زیادی از جمله گونه ژنوتیپ، رقم، محیط کشت، نمک‌های معدنی، مواد آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و شرایط محیطی قرار می‌گیرد (جورج[1] و همکاران، ۲۰۰۸). مطابق نتایج به دست آمده به لحاظ صفات ریشه‌زایی شامل تعداد ریشه، طول ریشه، وزن‌تر و خشک ریشه‌های تولید شده، بین ژنوتیپ پایه، تیمارهای هورمونی و اثر متقابل نوع ژنوتیپ پایه و هورمون ریشه‌زایی به جزء طول ریشه در سطح ۱درصد تفاوت معنی‌دار نشان داده است (جدول۶).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد بیشترین ریشه تولیدی با میانگین تعداد ۵/۹۳ ریشه در هر شاخه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR10) بود و کم‌ترین آن مربوط به (AR8) اصفهان با میانگین تعداد کمتر از یک ریشه بوده است. بیشترین طول ریشه مربوط ژنوتیپ هیبرید (AR11) با میانگین طول ۶/۰۶ سانتی‌متر و کوتاه‌ترین ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید به (AR8) با میانگین طول ۰/۳۳ سانتی‌متر بود. بیشترین وزن‌تر و خشک ریشه به‌ترتیب با میانگین ۰/۴۶ و ۰/۰۳ گرم در ژنوتیپ هیبرید (AR11) و کم‌ترین وزن‌تر و خشک مربوط به ژنوتیپ آزایش با میانگین ۰/۰۱ و ۰/۰۰۱ گرم بود (جدول۷).

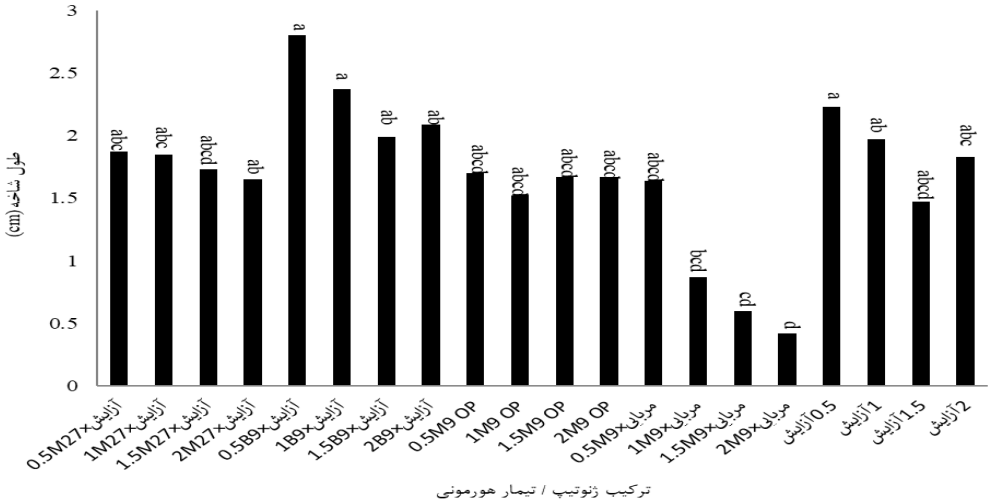
بین تیمارهای مختلف ریشه‌زایی به لحاظ تعداد ریشه تفاوت معنی‌داری مشاهده شد، تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین تعداد ۵/۴۵ ریشه در هر شاخه بیشترین و تیمار (۱ میلی‌گرم در لیتر IBA) با میانگین ۱/۰۵ ریشه، کم‌ترین تعداد ریشه را داشتند. تیمارهای مختلف هورمونی ریشه‌زایی به لحاظ طول ریشه نیز تفاوت معنی‌داری را نشان دادند. بیشترین طول ریشه با میانگین ۳/۷۹ سانتی‌متر در تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر IBA) وکوتاه‌ترین طول ریشه در تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با ۱/۶۴ سانتی‌متر مشاهده شد. همانگونه که مشاهده می‌شود بین تعداد ریشه در هر شاخه و طول ریشه رابطه معکوس وجود دارد. وزن‌تر و خشک ریشه‌های تولیدی در تیمارهای مختلف هورمونی ریشه‌زایی نیز تفاوت معنی‌داری داشت. بیش‌ترین وزن‌تر و خشک ریشه در تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) به‌ترتیب با میانگین وزن ۰/۴۹ و۰/۰۲ گرم و کم‌ترین وزن تر و خشک در تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر IBA) با میانگین ۰/۰۴ و ۰/۰۰۵ گرم ثبت شد (جدول۸).

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه، نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی بر تعداد ریشه‌های تولید شده در محیط درون‌شیشه‌ای نشان داد، بیش‌ترین تعداد ریشه تولید شده مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین ۱۰/۳۳ ریشه، ژنوتیپ هیبرید (AR10) و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین ۹/۸۶ ریشه وکم‌ترین تعداد ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR8) با تیمار (۱ میلی‌گرم در لیتر IBA) و ژنوتیپ آزایش اصفهان و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین بدون ریشه و کالوس‌دهی ۱۰۰ درصد بوده است (جداول۹، ۱۰، نمودار۴، شکل۲).

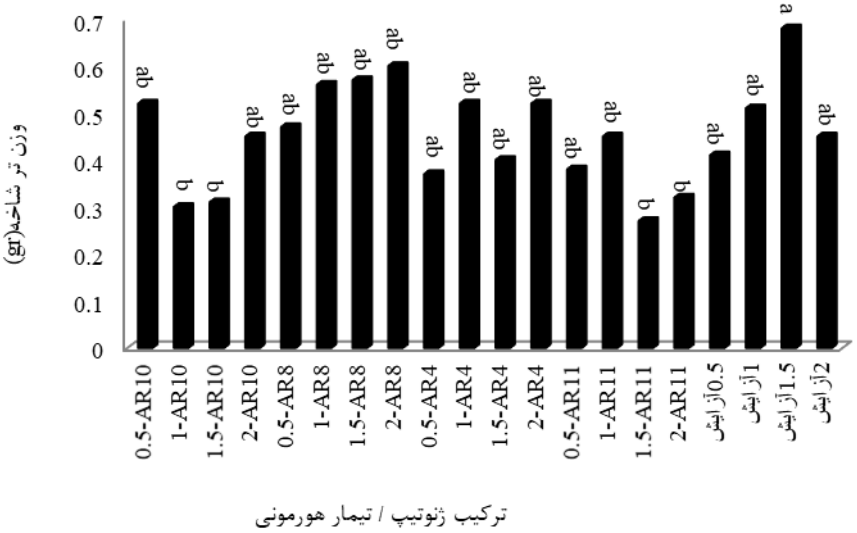
مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه، غلظت و نوع هورمون ریشه‌زایی بر طول ریشه‌های تولید شده، نشان داد بیشترین طول ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) با تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر IBA)با میانگین ۹/۳۳ سانتی‌متر وکوتاه‌ترین ریشه در ژنوتیپ آزایش و تیمار

1. George

نمودار۱- مقایسه میانگین تعداد شاخه در ترکیب ژنوتیپ پایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون BAP. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



نمودار۲- مقایسه میانگین طول شاخه در ترکیب ژنوتیپ پایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون BAP. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



نمودار۳- مقایسه میانگین وزن تر شاخه در ترکیب ژنوتیپ پایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون BAP. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری بر اساس روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شکل۱-مقایسه تعداد شاخه بین ژنوتیپ آزایش اصفهان و تیمار هورمونی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) (راست) و ژنوتیپ هیبرید (AR10) و تیمار هورمونی (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP) (چپ)

جدول۶- تجزیه واریانس ریشه‌زایی ژنوتیپ پایه‌های سیب تحت تأثیر تیمارهای مختلف ریشه‌زایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	تعداد ریشه	طول ریشه	وزن‌تر ریشه	وزن خشک ریشه
ژنوتیپ	۴	۹۷/۴۱**	۶۰/۰۵**	۰/۴۵**	۰/۰۰۱۹**
غلظت هورمون	۳	۸۳/۱۵**	۲۰/۱۵**	۰/۷۱**	۰/۰۰۱۷**
غلظت هورمون× ژنوتیپ	۱۲	۱۶/۲۳**	۴/۰۵ns	۰/۱۲**	۰/۰۰۰۹**
خطای آزمایشی	۴۰	۲/۸۰	۳/۲۶	۰/۰۲	۰/۰۰۰۰۸

ns و **: به ترتیب اختلاف غیر معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار درسطح احتمال ۱٪

جدول۷- مقایسه میانگین ریشه‌زایی ژنوتیپ پایه‌های سیب

ژنوتیپ	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	وزن‌تر ریشه(gr)	وزن خشک ریشه(gr)
AR11	۵/۵۶a	۶/۰۶b	۰/۴۶a	۰/۰۳a
AR10	۵/۹۳a	۳/۲۶b	۰/۲۶b	۰/۰۲b
AR8	۰/۰۱b	۰/۳۳d	۰/۴۶a	۰/۰۰۲c
AR4	۴/۰۳a	۳/۰۸bc	۰/۰۴c	۰/۰۱b
آزایش	۰/۱۸b	۱/۰۶cd	۰/۰۱c	۰/۰۰۱c

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

جدول۸- مقایسه میانگین ریشه‌زایی در تیمارهای مختلف هورمون ریشه‌زا

تیمار	تعداد ریشه	طول ریشه(cm)	وزن تر ریشه(gr)	وزن خشک ریشه(gr)
IBA (۱ میلی‌گرم در لیتر)	۱/۰۵b	۳/۷۲a	۰/۰۵c	۰/۰۰۵b
IBA (۲ میلی‌گرم در لیتر)	۱/۲۱b	۳/۷۹a	۰/۰۴c	۰/۰۰۵b
NAA (۱ میلی‌گرم در لیتر)	۴/۹۳a	۱/۸۷b	۰/۳۳b	۰/۰۱a
NAA (۲ میلی‌گرم در لیتر)	۵/۴۵a	۱/۶۴b	۰/۴۹a	۰/۰۲a

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین طول ۰/۰۶ سانتی‌متر ثبت شده است (جدول۹، نمودار۵). مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ پایه، غلظت و نوع هورمون ریشه‌زایی بر وزن‌تر و خشک ریشه‌های تولید شده در هر شاخه نشان داد، بیشترین وزن‌تر و خشک ریشه مربوط به به ژنوتیپ هیبرید (AR11) با تیمارهورمونی (۱ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین وزن‌تر و خشک به ترتیب ۰/۸۵ و ۰/۰۵ گرم و کم‌ترین وزن‌تر و خشک ریشه در ژنوتیپ آزایش و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) با میانگین وزن ۰/۰۰۲ گرم ثبت شده است (جدول۹).

جدول۹- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تیمار هورمون در ریشه‌زایی شاخه

تیمار	تعداد ریشه	طول ریشه (cm)	وزن‌تر ریشه(gr)	وزن خشک ریشه(gr)
(IBA1)AR10	۲/۱۳^{bcd}	۴/۹۵^{abc}	۰/۰۳^{c}	۰/۰۰۶^{cd}
(IBA2)AR10	۳/۱۳^{bcd}	۳/۳۹^{bc}	۰/۰۶^{c}	۰/۰۰۷^{cd}
(NAA ۱)AR10	۸/۶۰^{a}	۲/۲۶^{bc}	۰/۲۴^{bc}	۰/۰۰۲^{bcd}
(NAA ۲)AR10	۹/۸۶^{a}	۲/۴۳^{bc}	۰/۷۲^{a}	۰/۰۴۸^{ab}
(IBA1)AR8	۰/۱۳^{d}	۰/۵۳^{c}	۰/۰۰۳^{c}	۰/۰۰۰۳^{d}
(IBA2)AR8	۰/۰۰۱^{d}	۰/۰۰^{c}	۰/۰۰۰^{c}	۰/۰۰۰۱^{d}
(NAA ۱)AR8	۰/۰۶^{d}	۰/۲۶^{c}	۰/۰۰۶^{c}	۰/۰۰۰۴^{d}
(NAA ۲)AR8	۰/۲۰^{d}	۰/۵۳^{c}	۰/۱۸^{bc}	۰/۰۰۸^{cd}
(IBA1) AR4	۱/۵۲۰^{d}	۳/۴۰^{bc}	۰/۱۰^{bc}	۰/۰۰۵^{cd}
(IBA2) AR4	۱/۵۳^{cd}	۴/۷۴^{abc}	۰/۰۷^{c}	۰/۰۰۶^{cd}
(NAA1) AR4	۶/۵۳^{abc}	۲/۱۴^{bc}	۰/۵۵^{ab}	۰/۰۲۳^{bcd}
(NAA ۲) AR4	۶/۸۶^{ab}	۲/۰۴^{bc}	۰/۷۳^{a}	۰/۰۳۱^{abc}
(IBA1)AR11	۱/۵۳^{cd}	۷/۰۵^{ab}	۰/۰۹^{bc}	۰/۰۱۳^{cd}
(IBA2)AR11	۱/۰۲^{d}	۹/۳۳^{a}	۰/۰۷^{c}	۰/۰۱۰^{cd}
(NAA1)AR11	۹/۴۰^{a}	۴/۶۵^{abc}	۰/۸۵^{a}	۰/۰۵۳^{a}
(NAA1 ۲)AR11	۱۰/۳۳^{a}	۳/۲۱^{bc}	۰/۸۱^{a}	۰/۰۴۷^{ab}
آزایش (IBA1)	۰/۲۶^{d}	۲/۷۰^{bc}	۰/۰۳^{c}	۰/۰۰۳^{cd}
آزایش (IBA2)	۰/۴۰^{d}	۱/۵۱^{bc}	۰/۰۲^{c}	۰/۰۰۳^{cd}
آزایش (NAA1)	۰/۰۶^{d}	۰/۰۶^{c}	۰/۰۰۲^{c}	۰/۰۰۰۱^{d}
آزایش (NAA 2)	۰/۰۰۰^{d}	۰/۰۰^{c}	۰/۰۰۰^{c}	۰/۰۰۰۰^{d}

میانگین‌هایی که در هر ستون حروف مشابه دارند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر ندارند.

نتایج به دست آمده از این پژوهش با نتایج سایر پژوهش‌های انجام گرفته در خصوص تأثیر ژنوتیپ و نوع هورمون بر میزان ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها مطابقت کامل دارد. در خصوص تأثیر هورمون بر میزان ریشه‌زایی ریزنمونه‌ها، بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۲/۶۵ ریشه به ازای هر ریزنمونه در محیط کشت MS به همراه ۸/۰۵ میکرومولار NAA مشاهده گردید (نصیرکندی و همکاران ۱۳۹۶). موهیت‌سونی[1] و همکاران (۲۰۱۰) انواع و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی جهت ریز ازدیادی پایه رویشی سیب MI.793 آزمایش کردند و نتیجه گرفتند که هورمون NAA در غلظت کم موثرتر از هورمون IBA وIAA بود. روستایی و همکاران (۲۰۰۷) بهینه‌سازی باززایی درون‌شیشه‌ای پایه بومی پاکوتاه سیب گمی‌الماسی را از طریق اندام‌زایی مستقیم از بافت برگ‌های کشت بافتی گزارش کردند. محیط کشت MS حاوی ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA برای باززایی مناسبترین بود.

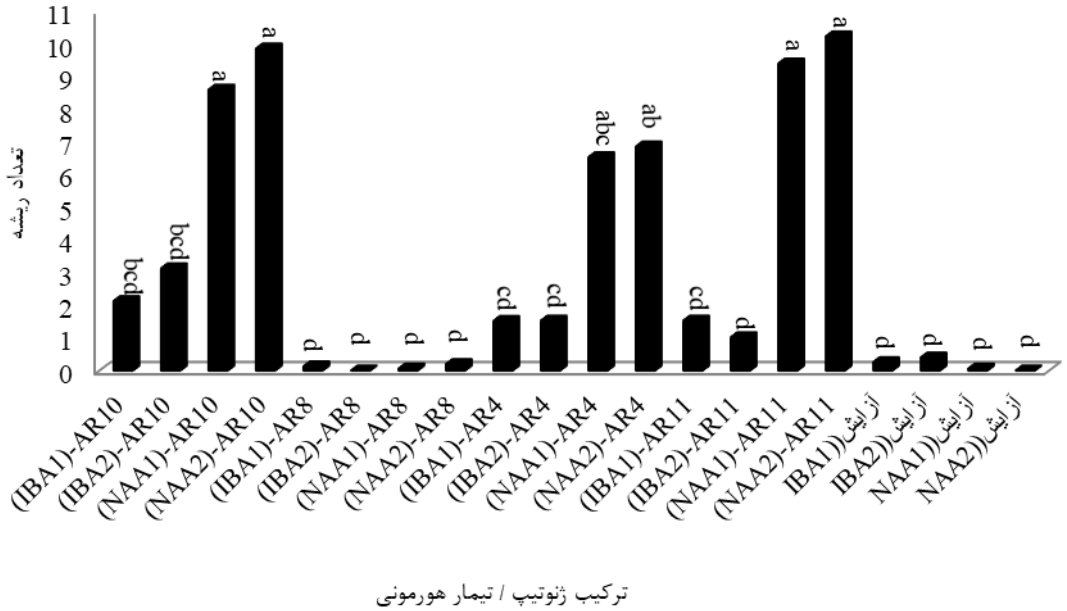
نتیجه‌گیری کلی

ریزنمونه‌های تهیه شده در طول بهار و تابستان فنل‌زایی قوی داشته بر روی محیط MS استقرار مناسبی نداشتند، اما نمونه‌گیری در فصل پاییز، استفاده از محیط ۱/۲MS حاوی PVP باعث جوانه‌زنی ریزنمونه‌ها و استقرار مناسب در محیط کشت گردید. موفقیت در هر پروتکل کشت بافتی به تعداد شاخه‌های تولید شده در محیط درون شیشه‌ای بستگی دارد. تعداد شاخه‌های تولید شده به ژنوتیپ پایه و غلظت هورمون شاخه‌زایی وابسته بود. بیشترین شاخه تولیدی مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR11) وکمترین آن مربوط به ژنوتیپ آزایش اصفهان بود. با افزایش تعداد شاخه در محیط کشت، طول، وزن‌تر و خشک آنها کاهش یافت، همین طور با افزایش غلظت

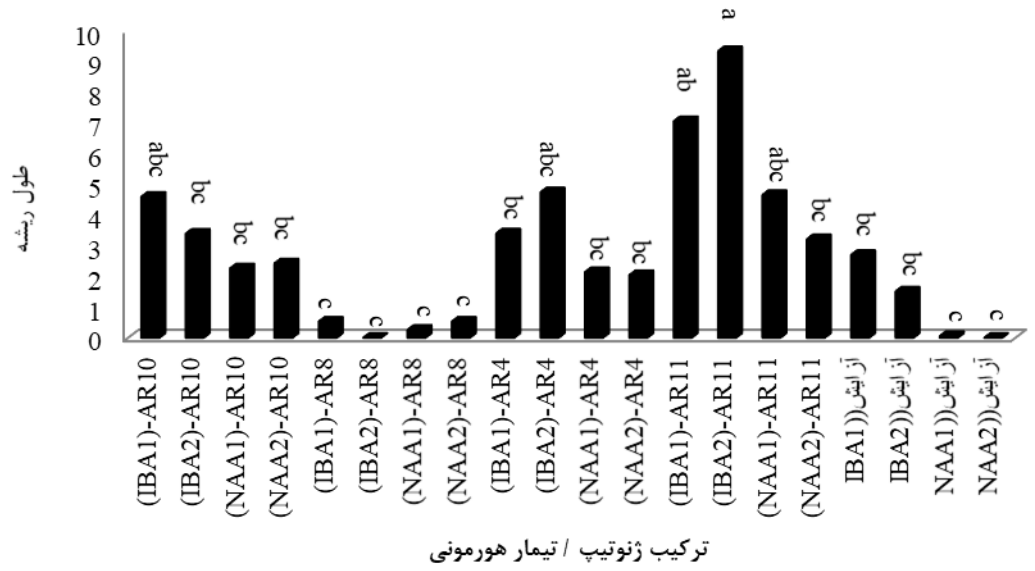
1. Mohit Soni

جدول ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و تیمار هورمون در ریشه‌زایی و کالوس‌زایی شاخه

تیمار	ریشه‌زایی٪	کالوس‌زایی٪	بدون ریشه و کالوس ٪
(IBA1)AR10	۶۰	۴۰	۰
(IBA2)AR10	۶۰	۴۰	۰
(NAA ۱)AR10	۸۰	۶/۶۶	۱۳/۳۳
(NAA ۲)AR10	۷۳/۳۳	۰	۲۶/۶۶
(IBA1)AR8	۶/۶	۹۳/۳	۰
(IBA2)AR8	۰	۱۰۰	۰
(NAA ۱)AR8	۶/۶	۹۳/۳	۰
(NAA ۲)AR8	۱۳/۳۳	۸۶/۶۶	۰
(IBA1) AR4	۵۳/۳۳	۴۶/۶۶	۰
(IBA2) AR4	۶۰	۴۰	۰
(NAA1)AR4	۶۶/۶۶	۳۳/۳۳	۰
(NAA۲) AR4	۷۳/۳۳	۲۰	۶/۶
(IBA1)AR11	۷۳/۳۳	۱۳/۳۳	۱۳/۳۳
(IBA2)AR11	۶۶/۶۶	۰	۳۳/۳۳
(NAA1)AR11	۱۰۰	۰	۰
(NAA۲)AR11	۷۳/۳۳	۰	۲۶/۶۶
آزایش (IBA1)	۲۰	۸۰	۰
آزایش (IBA2)	۱۳/۳۳	۸۶/۶۶	۰
آزایش (NAA1)	۶/۶۶	۹۳/۳۳	۰
آزایش (NAA 2)	۰	۱۰۰	۰



نمودار۴- مقایسه میانگین تعداد ریشه در ترکیب ژنوتیپ پایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی. ستون های با حروف مشترک تفاوت معنی داری بر اساس روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.



نمودار۵- مقایسه میانگین طول ریشه در ترکیب ژنوتیپ پایه‌های مختلف و غلظت‌های مختلف هورمون‌های ریشه‌زایی. ستون های با حروف مشترک تفاوت معنی داری بر اساس روش دانکن در سطح احتمال پنج درصد ندارند.

شکل۲-مقایسه تعداد ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (M9×مربایی) و تیمار هورمونی (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) (راست) با ریشه‌زایی مطلوب و ژنوتیپ هیبرید (B9 ×آزایش) با تیمار(۱ میلی‌گرم در لیتر IBA) بدون ریشه (چپ)

هورمون شاخه‌زایی تعداد و طول شاخه‌های تولید شده کاهش یافت. مقدار مناسب هورمون شاخه‌زای BAP برای نمو حداکثر تعداد شاخساره‌ها در بین ژنوتیپ پایه‌ها متفاوت بود. ژنوتیپ پایه‌های آزمایش شده تحت غلظت‌های مختلف هورمون شاخه‌زایی، واکنش‌های مختلفی نشان دادند. واکنش‌های متفاوت ژنوتیپ پایه-هایسیب نسبت به غلظت‌های مختلف BAP، ممکن است در ارتباط با تفاوت در میزان مواد تنظیم‌کننده‌های رشد درونی (سیتوکنین‌ها یا سایر مواد تنظیم‌کننده‌ای رشد) باشد، یا به‌علت اختلاف در جذب سیتوکنین از محیط کشت باشد. ریشه‌زایی شاخساره در کشت درون‌شیشه‌ای نیز تحت تأثیر ژنوتیپ و نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی قرارگرفت. بیشترین تعداد، وزن‌تر و خشک ریشه مربوط به ژنوتیپ هیبرید (AR10) و ژنوتیپ هیبرید (AR11) بود وکم‌ترین و کوتاه‌ترین ریشه مربوط به (AR8) بود. نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی بر تعداد و طول ریشه‌های تولید شده موثر بود. تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر NAA) بیشترین و تیمار (۱ میلی‌گرم در لیتر IBA) کم‌ترین تعداد ریشه را تولید کرد. بین تعداد ریشه در هر شاخه و طول ریشه رابطه معکوس اما با وزن‌تر و خشک ریشه رابطه مستقیم داشت. بیشترین طول ریشه در تیمار (۲ میلی‌گرم در لیتر IBA) وکوتاه‌ترین طول ریشه در تیمار هورمونی (۲ میلی گرم در لیتر NAA) مشاهده شد. اثر متقابل ژنوتیپ پایه، نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی بر تعداد، طول، وزن‌تر و خشک ریشه‌های تولید شده در محیط درون‌شیشه‌ای نشان داد، ریشه‌زایی تحت تأثیر ژنوتیپ، نوع و غلظت هورمون ریشه‌زایی قرار دارد و ژنوتیپ‌هایی که با تیمارهای هورمونی قادر به تولید ریشه نبودند، کالوس تولید کردند.

در مجموع چنین نتیجه‌گیری می‌شود در بین ژنوتیپ پایه‌های مورد بررسی ژنوتیپ پایه‌های هیبرید (AR11) و (AR10) با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA نسبت به سایر ژنوتیپ پایه‌ها شاخه‌زایی و ریشه‌زایی بهتری داشتند.

منابع

آتشکار، د.، ارشادی، ا.، طاهری، م. و عبدالهی، ح. ۱۳۹۷. غربالگری برخی پایه‌های دورگه انتخابی سیب برای تحمل به تنش خشکی بر اساس صفات مرتبط با فتوسنتز. مجله علوم باغبانی ایران، ۴۹(۴): ۱۰۱۳-۱۰۲۴.

آتشکار، د.، حق‌جویان، ر.، دودانگه، م. و تقی‌زاده، ا.ا. ۱۳۹۹. پیش‌بینی پتانسیل رشد با مطالعه صفات رویشی در برخی پایه‌های سیب دورگه مجله علوم باغبانی ایران، ۵۱(۴): ۹۲۵-۹۳۷.

آتشکار، د.، پیرخضری، م. و تقی‌زاده، ا.ا. ۱۳۹۵. تولید و ارزیابی مقدماتی پایه‌های دورگ رویشی سیب (*Mallus domestica* Borkh). مجله علوم باغبانی ایران، ۴۷: ۳۲۹-۳۳۵.

ناشناس. ۱۳۹۹. آمارنامه رسمی وزارت جهاد کشاورزی، انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، تهران، ایران.

نصیرکندی، ع.، حسینی، ب.، فرخزاد، ع.، ناصری، ل. و آقایی، خ . ۱۳۹۶. بهینه‌سازی شرایط کشت بافت برای ریزازدیادی پایه سیب MM111. پژوهش‌های میوه‌کاری، ۲(۲): ۱-۱۶.

Boudabous, M., Mars, M., Marzougui, N. and Ferchichi, A. 2010. Micropropagation of apple (*Malus domestica* L. cultivar Douce de Djerba) through in vitro culture of axillary buds. Acta Botanica Gallica, 157(3): 513-524.

Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J. and Lazányi, J. 2000. In vitro shoot multiplication of apple: comparative response of three rootstocks to cytokinines and auxin. International Journal of Horticultural Science, 6(1): 36-39.

Dobránszky, J., Abdul-Kader, A., Magyar-Tábori, K., Jámbor-Benczúr, E., Bubán, T., Szalai, J. and Lazányi, J. 2000. Single and dual effects of different cytokinins on shoot multiplication of different apple scions. International Journal of Horticultural Science, 6(4): 76-78.

Elfving, D.C., Schecter, I. and Hutchinson, A. 1993. The history of the Vineland (V.) apple rootstocks. 47: 52-59.

Fisher, M. 1996. Semi dwarf apple rootstock from dersen-pilinitz. Eucapia symposium on fruit breeding and genetics. Acta Horticulture, 484:183-187.

George, E.F., Hall, M.A. and Klerk, G.J.D. 2008. Adventitious regeneration. In Plant Propagation by Tissue Culture: Volume 1. The Background (pp. 355-401). Dordrecht: Springer Netherlands.

Khanizadeh, S., Groleau, Y., Levasseur, A., Granger, R., Rousselle, G.L. and Davidson, C. 2005. Development and evaluation of St Jean-Morden apple rootstock series. HortScience, 40(3): 521-522.

Lane, W.D., Looney, N.E. and Måge, F. 1982. A selective tissue culture medium for growth of compact (dwarf) mutants of apple. Theoretical and Applied Genetics, 61: 219-223.

Lane, W.D. and McDougald, J.M. 1982. Shoot tissue culture of apple: comparative response of five cultivars to cytokinin and auxin. Canadian Journal of Plant Science, 62(3): 689-694.

Mohit Soni, M.S., Manisha Thakur, M.T. and Manju Modgil, M.M. 2011. In vitro multiplication of Merton I. 793-an apple rootstock suitable for replantation. Indian Journal of Biotechnology, 10: 362-368.

Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiologia Plantarum, 15(3): 473-497.

Rustaee, M., Nazeri, S., Ghadimzadeh, M. and Malboobi, M.A. 2007. Optimizing in vitro regeneration from Iranian native dwarf rootstock of apple (*Malus domestica* Borkh). International Journal of Agriculture and Biology, 9(5): 775-778.

Webster, C.A. and Jones, O.P. 1991. Micropropagation of some cold-hardy dwarfing rootstocks for apple. Journal of Horticultural Science, 66(1): 1-6.

Yepes, L.M. and Aldwinckle, H.S. 1994. Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation. Plant Growth Regulation, 15: 55-67.