

## بررسی تاثیر برخی محیط کشت‌های پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مختلف بر رشد درون شیشه‌ای فندق

پریسا دریانی<sup>۱</sup> - ناصر زارع<sup>۲\*</sup> - اسماعیل چمنی<sup>۳</sup> - پریسا شیخ زاده مصدق<sup>۴</sup> - داود جوادی مجد<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۵/۰۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۲

### چکیده

این تحقیق به منظور بررسی تاثیر چند نوع محیط کشت پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر استقرار و پرآوری درون شیشه‌ای فندق (*Corylus avellana*) انجام گرفت. برای این منظور، جوانه‌های جانبی و انتهایی رقم فرتیل فندق در فصل بهار تهیه شده و پس از ضدعفونی روی محیط کشت‌های MS، NRM، MS و 1/2MS حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و سطوح مختلف BAP کشت شدند. نتایج نشان داد که بین محیط کشت‌های مختلف و همچنین سطوح متفاوت BAP تفاوت معنی‌داری از نظر درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ در هر ریزنمونه و طول ساقه رشد کرده وجود دارد. براساس مقایسات گروهی مستقل، اگرچه درصد شاخه‌دهی محیط کشت پایه MS به طور معنی‌داری بیشتر از محیط کشت NRM و 1/2MS بوده ولی طول ساقه‌های رشد کرده در محیط کشت NRM به طور معنی‌داری بیشتر از دو محیط کشت پایه دیگر بود. به طوری که محیط کشت NRM حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و یک میلی‌گرم بر لیتر BAP با ۵۰ درصد شاخه‌دهی، ۵/۳۳ برگ در هر ساقه و ۱/۶ cm طول ساقه رشد کرده مناسب ترین شرایط را برای مرحله استقرار و رشد ریزنمونه‌ها فراهم آورد. ساقه‌های رشد کرده در مرحله استقرار، به صورت ریزنمونه‌های تک‌گره به محیط کشت NRM حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و غلظت‌های مختلف BAP و TDZ انتقال داده شد. بیشترین درصد رشد به همراه کمترین درصد کالوس‌زایی و قهوه‌ای شدن در تیمار ۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA به دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** پرآوری جوانه، جوانه‌های جانبی و انتهایی، کشت بافت گیاهی، *Corylus avellana*

### مقدمه

استاندارد و جدید حاصل از برنامه‌های اصلاحی بیش از پیش ضروری است.

روش‌های کلاسیک تکثیر فندق با استفاده از بذر، قلمه و خوابانیدن زمان بر بوده و کارایی پایینی در ازدیاد تجاری این گیاه دارند. تکنیک ریزازدیادی درون شیشه‌ای راهکار مناسبی را برای تکثیر انبوه و توزیع سریع لاین‌ها یا ارقام برتر و جدید در سطح تجاری فراهم می‌آورد. علاوه بر این، با استفاده از این تکنیک امکان تکثیر انبوه نهال‌های یکنواخت و عاری از بیماری و توزیع آن بین کشاورزان وجود دارد (۱۰). سرعت شاخه‌زایی کم و میزان بالای آلودگی میکروبی از عوامل اصلی محدود کننده موفقیت در ریزازدیادی درختان می‌باشد (۴). اغلب به منظور به حداقل رساندن مشکلات، از بافت‌های جوان (قاعده جوانه) درختان بالغ استفاده می‌شود (۲ و ۴).

ترکیب محیط کشت نقش مهمی در موفقیت ریزازدیادی دارد. محیط کشت‌های مختلفی برای کشت بافت فندق به منظور استقرار و اندام‌زایی مورد استفاده قرار گرفته است (۱۵)، که از جمله آن‌ها

فندق با نام علمی *Corylus avellana* یکی از محصولات مهم مغز دانه‌ای و سومین محصول زمین‌های آبی در حوزه رودخانه‌ها می‌باشد (۸). میوه این گیاه سرشار از پروتئین (۱۹ درصد) و مواد مغذی، روغن (۲۰ درصد به طور متوسط)، و همچنین منبع بسیار خوبی از ویتامین B<sub>6</sub> است. روغن فندق مانند روغن زیتون، حاوی ۷۰ درصد چربی‌های غیر اشباع می‌باشد (۱۴). با توجه به کاربردهای زیاد فندق در آجیل و همچنین وسایل آرایشی-بهداشتی، در بسیاری از کشورها تولید فندق ترویج یافته و در حال رشد است. با توجه به تقاضای در حال افزایش برای فندق، تکثیر و توزیع سریع ارقام

۱، ۲، ۳ و ۴- به ترتیب دانش آموخته کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، استادیار، دانشیار و استادیار دانشگاه محقق اردبیلی  
\*نویسنده مسئول: (Email: zarenasser@yahoo.com)

۵- مربی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان

مایع ظرف‌شویی به مدت ۳۰ دقیقه شستشو داده شده و سپس به مدت دو ساعت با آب جاری آبکشی شدند. سپس، جوانه‌های انتهایی و جانبی با استفاده از الکل ۷۰ درصد به مدت یک دقیقه و سپس هیپوکلریت سدیم ۲/۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی سطحی شده و پس از سه بار آبکشی با آب مقطر استریل به مدت ۵ دقیقه، روی محیط کشت انتقال داده شدند.

محیط کشت‌های مورد استفاده برای کشت ریزنمونه‌های جوانه جانبی و انتهایی عبارتند از: محیط کشت پایه NRM (۱۲) حاوی سطوح مختلف صفر، ۱، ۲، ۳، ۵ و ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، محیط کشت پایه MS (۹) حاوی صفر، ۳، ۵ و ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و محیط کشت ۱/۲MS حاوی سطوح صفر، ۱ و ۳ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA. کشت‌ها در اتاقک رشد با فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و نور لامپ‌های فلورسنت نگهداری شدند. زیرکشت ریزنمونه‌ها از هر ۴ هفته یک‌بار انجام گرفت. درصد ریزنمونه‌های رشد کرده، تعداد برگ، طول ساقه و فاصله میانگره حدود ۲-۳ هفته بعد از کشت ثبت شد.

ریزنمونه‌های رشد یافته در مرحله استقرار، به منظور رشد و تکثیر بیشتر به محیط کشت‌های NRM حاوی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به همراه ۲/۵، ۵ و ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP یا TDZ منتقل شدند. صفات درصد شاخه‌دهی، کالوس‌دهی و درصد قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌ها ۴ هفته پس از کشت یادداشت گردید. آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و حداقل ۱۵ ریزنمونه در هر تکرار انجام یافت. برای مقایسه محیط کشت‌های پایه مختلف از مقایسات گروهی مستقل استفاده گردید و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS Version 19 انجام گرفت.

## نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از نظر درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ، طول ساقه و فاصله میانگره در مرحله استقرار اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بیشترین درصد شاخه‌دهی (۶۶/۶۷ درصد)، در محیط کشت MS حاوی ۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و همچنین محیط کشت NRM حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA (۵۰ درصد) مشاهده شد. علاوه بر این، بیشترین تعداد برگ، طول ساقه و فاصله میانگره، به ترتیب با میانگین ۵/۳۳، ۱/۵۳ سانتی‌متر و ۰/۴ سانتی‌متر در محیط کشت NRM حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد. با این حال، بین این

می‌توان به محیط کشت‌های اندرسون<sup>۱</sup> (۱)، محیط کشت MS<sup>۲</sup> (۹)، محیط کشت MWP<sup>۳</sup> و DKW<sup>۴</sup> (۵) تغییر یافته (۱۶) اشاره نمود. مطالعات نشان داده که استفاده از ترکیب مواد معدنی و آلی در نسبت مشابه با ترکیب معدنی و آلی دانه می‌تواند برای کشت بافت و ریزازدیادی در بیشتر گیاهان مطلوب باشد. از محتوای مواد معدنی دانه در ریزازدیادی تجاری گونه‌های ریکالسیترانت<sup>۵</sup> به عنوان محیط کشت استفاده می‌شود. رشد ریزنمونه‌ی فندق در محیط کشت NRM<sup>۶</sup> (که دارای ترکیب مواد غذایی مشابه با دانه فندق است) با ریزنمونه‌ی کشت شده در محیط‌های کشت WPM<sup>۷</sup>، NN<sup>۸</sup>، DKW و MS مورد مقایسه قرار گرفته و میانگین رشد طول ساقه در محیط کشت NRM تا سه برابر بیشتر از محیط کشت‌های دیگر و پتانسیل سرعت چند شاخه‌ای شدن در این محیط (تا ۱۰۷ درصد) و محیط کشت WPM (تا ۸۵ درصد) بالاتر از محیط کشت‌های دیگر گزارش شده است (۱۰ و ۱۲). دامیانو و همکاران (۳) در مطالعه‌ی رقم‌های مختلف فندق در ایتالیا گزارش کردند که محیط کشت DKW و MOLT که ترکیبی از محیط DKW و WPM است، به همراه ۱/۵ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA<sub>3</sub> و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA برای مرحله شاخه‌زایی مناسب می‌باشد.

تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی که در غلظت بسیار کم در گیاه تولید می‌شوند، یکی از مهم‌ترین عوامل موثر در تنظیم تقسیم، رشد و تمایزبایی سلول گیاهی هستند. اکسین‌ها و سیتوکینین‌ها به تنهایی و یا در ترکیب با یکدیگر، پرکاربردترین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در کشت سلول، بافت و اندام گیاهی بوده و نقش بسیار مهمی در استقرار و رشد درون شیشه‌ای ریزنمونه‌ها دارند. با این حال، نوع و غلظت تنظیم‌کننده رشد گیاهی مورد نیاز برای رشد مطلوب درون شیشه‌ای بسته به گونه گیاهی، ژنوتیپ و نوع ریزنمونه مورد استفاده، متفاوت است (۲ و ۷). این تحقیق به منظور بررسی تاثیر نوع محیط کشت پایه و ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد بر استقرار، رشد و تکثیر درون شیشه‌ای فندق انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

نمونه‌های رقم فرتیل فندق از ایستگاه تحقیقاتی فندق رودسر (استان گیلان) در اوایل فصل بهار تهیه گردید. ابتدا سرشاخه‌ها با

- 1- Anderson
- 2- Murashige and Skoog
- 3- Modified Woody Plant Medium for Chestnut
- 4- Driver and Kuniyuki Walnut medium
- 5- Reculcitrant
- 6- Nas and Read Medium
- 7- Woody Plant Medium
- 8- Nitsch and Nitsch

BAP نیاز دارد. کاربرد غلظت بالاتری از هورمون BAP هر چند باعث افزایش شاخه‌دهی و تعداد برگ شد، اما این رشد به صورت کپه‌ای بوده و از طول ساقه و فاصله میانگره ریزنمونه‌های فندق کاسته و شرایط را برای مرحله تکثیر سخت می‌کند. در حالی که در محیط کشت NRM حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر BAP علاوه بر درصد شاخه‌دهی زیاد، نوساقه‌های رشد کرده از تعداد برگ و طول ساقه مناسبی نیز برخوردار بودند (جدول ۱). به عبارت دیگر، از نظر صفات مورفولوژیکی نوساقه‌های رشد کرده جهت انتقال به مرحله تکثیر، محیط کشت پایه NRM به همراه یک میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA نوساقه‌های مناسب‌تری را برای مرحله تکثیر فراهم نمود (شکل ۱).

ترکیبات محیط کشت NRM شبیه به موادغذایی موجود در بذر گیاه فندق می‌باشد، که بهترین شرایط رشدی را فراهم آورده است (۱۰ و ۱۲). رشد ریزنمونه‌ی فندق کشت شده در محیط‌های کشت WPM، NN، DKW و MS مورد مقایسه قرار گرفته و میانگین رشد طول ساقه در محیط کشت NRM تا سه برابر بیشتر از محیط کشت‌های دیگر و پتانسیل سرعت چند شاخه‌ای شدن در این محیط (تا ۱۰۷ درصد) و محیط کشت WPM (تا ۸۵ درصد) بالاتر از محیط کشت‌های دیگر گزارش شده است (۱۰ و ۱۲). ولی در تحقیق حاضر، مقایسات گروهی مستقل محیط کشت‌های پایه مورد استفاده از لحاظ پاسخ رشدی ریزنمونه‌ها نشان داد که طول ساقه رشد کرده در محیط کشت NRM به‌طور معنی‌داری بیشتر از محیط‌های MS و 1/2MS بوده ولی درصد شاخه‌دهی ریزنمونه‌ها (درصد ریزنمونه‌های رشد کرده) در محیط کشت MS به‌طور معنی‌داری بیشتر از NRM به دست آمد (جدول‌های ۱ و ۲).

جدول ۱- میانگین شاخه‌دهی، تعداد برگ و طول ساقه ریزنمونه‌های فندق در محیط کشت‌های مختلف حاوی ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA به همراه

غلظت‌های مختلف BAP

Table 1- Shooting, number of leaves and stem length of hazelnut explants on different media containing 0.01 mg/l IBA and different concentrations of BAP

محیط کشت پایه	غلظت BAP (mg/l) BAP concentration	درصد شاخه‌دهی Shootingpercentage	تعداد برگ Leaf number	طول ساقه (cm) Stem length
NRM	0	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>
NRM	1	50 <sup>ab</sup>	5.33 <sup>a</sup>	1.53 <sup>a</sup>
NRM	2	8.33 <sup>c</sup>	2 <sup>bc</sup>	0.333 <sup>bc</sup>
NRM	3	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>
NRM	5	25 <sup>bc</sup>	3.67 <sup>ab</sup>	0.767 <sup>b</sup>
NRM	8	16.67 <sup>bc</sup>	2.67 <sup>b</sup>	0.5 <sup>b</sup>
1/2MS	0	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>
1/2MS	1	15 <sup>bc</sup>	3 <sup>ab</sup>	0.6 <sup>b</sup>
1/2MS	3	26 <sup>bc</sup>	4 <sup>ab</sup>	0.167 <sup>bc</sup>
MS	0	0 <sup>d</sup>	0 <sup>d</sup>	0 <sup>c</sup>
MS	3	66.67 <sup>a</sup>	3.67 <sup>ab</sup>	0.20 <sup>bc</sup>
MS	5	66.67 <sup>a</sup>	4 <sup>ab</sup>	0.133 <sup>bc</sup>
MS	8	33.33 <sup>b</sup>	0.67 <sup>cd</sup>	0 <sup>c</sup>

حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد است

+ In each column different letters show the significant different at probability level of 5% based Duncan's Multiple Range test

محیط کشت و محیط کشت MS حاوی ۳ و ۵ میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA از نظر درصد شاخه‌دهی و میانگین تعداد برگ اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱). ریزنمونه‌های کشت شده در محیط کشت‌های NRM، 1/2MS و MS حاوی IBA (۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی هیچ گونه رشدی نشان ندادند. این امر نشان دهنده تاثیر BAP بر شروع رشد ریزنمونه‌های جوانه جانی و انتهایی فندق است. در سطوح بالاتر BAP، محیط کشت MS نسبت به محیط‌های NRM و 1/2MS درصد شاخه‌دهی بیشتری را نشان داد (جدول ۱). در محیط کشت NRM، با افزایش غلظت BAP به ۲، ۳، ۵ و ۸ میلی‌گرم در لیتر درصد شاخه‌دهی، تعداد برگ، طول ساقه و فاصله میانگره به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱). در محیط کشت MS حاوی ۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، علیرغم بالا بودن درصد شاخه‌زایی (۶۲/۲۲ درصد و ۴۶/۱۱ درصد) و تعداد برگ (۷/۳۳ و ۶/۲۲)، طول ساقه و فاصله میانگره نوساقه‌های رشد کرده، پایین بود (جدول ۱ و شکل ۱). علاوه بر این، در سطوح بالاتر BAP، محیط کشت MS در مقایسه با محیط کشت‌های NRM و 1/2MS درصد شاخه‌دهی بالاتری را نشان داد (جدول ۱). این امر نشان دهنده اثر متقابل بین محیط کشت پایه و غلظت BAP برای شاخه‌دهی است. محیط کشت‌های NRM، 1/2MS و MS از نظر غلظت یا ترکیب برخی از نمک‌ها با هم متفاوت هستند. غلظت یا ترکیب بالای نمک‌ها در محیط کشت می‌تواند جذب مواد غذایی توسط گیاه را تحت تاثیر قرار دهد (۱۵). محیط کشت MS بیشترین غلظت یا ترکیب نمک‌ها را به همراه دارد، در نتیجه برای دسترسی راحت گیاه به BAP برای رشد جوانه به غلظت بالاتری از هورمون

رشدی مناسب درون شیشه‌ای گیاه می‌باشد (۶، ۷، ۱۱ و ۱۷). بنابراین، این اختلاف‌ها می‌تواند ناشی از اثر رقم مورد استفاده، اثر متقابل بین ترکیب محیط کشت، رقم فندق و همچنین شرایط فیزیولوژیکی ریزنمونه‌ها باشد.

به نظر می‌رسد که تفاوت در رشد ریزنمونه‌ها بیشتر متأثر از نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشدی مورد استفاده است. در مطالعات متعددی اثبات شده که عوامل متعددی مانند ژنوتیپ گیاه مادری، ترکیب تنظیم‌کننده رشد گیاهی و شرایط فیزیولوژیکی ریزنمونه‌ها در کنار ترکیب محیط کشت پایه از عوامل بسیار مهم و موثر در پاسخ



شکل ۱- شاخه‌دهی ریزنمونه‌های فندق در محیط کشت‌های مختلف؛ A) حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، B) محیط کشت MS حاوی ۳ و ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و C) محیط کشت ۱/۲ MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA

Figure 1- Shooting of hazelnut explants on different culture media; A) NRM medium containing 1mg/l BAP and 0.01 mg/l IBA; B) MS medium containing 3 and 5 mg/l BAP and 0.01 mg/l IBA; C) 1/2 MS medium containing 1 mg/l BAP and 0.01 mg/l IBA

جدول ۲- شاخه‌دهی، تعداد برگ و طول ساقه حاصل از ریزنمونه‌های فندق در محیط کشت‌های پایه مختلف

Table 2- Shooting, number of leaves and stem length of hazelnut explants on different basal media

محیط کشت پایه Basal medium	درصد شاخه‌دهی Shooting percentage	تعداد برگ Leaf number	طول ساقه Stem length (cm)
NRM	<sup>b</sup> 16.67 <sup>+</sup>	2.28 <sup>a</sup>	<sup>a</sup> 0.522
MS	47.66 <sup>a</sup>	2.08 <sup>a</sup>	0.083 <sup>c</sup>
1/2MS	<sup>b</sup> 13.67	2.33 <sup>a</sup>	0.253 <sup>b</sup>

+ حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس مقایسات گروهی مستقل است

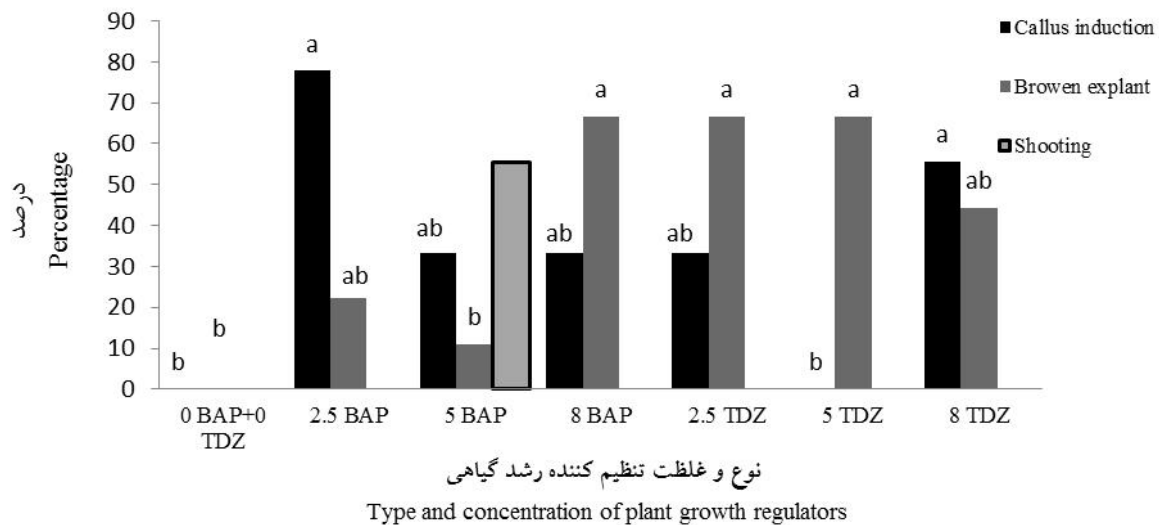
+ In each column different letters show the significant different at probability level of 5% based on orthogonal contrasts

ریزنمونه‌ها (۶۶/۶۶ درصد) مربوط به تیمارهای ۸ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۲/۵ و ۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ به درصد بود که در برخی مواقع باعث از بین رفتن ریزنمونه‌ها می‌شد (شکل ۲). در بین تیمارهای مورد استفاده، بهترین تیمار با درصد شاخه‌زایی مناسب و کمترین درصد کالوس‌زایی و درصد قهوه‌ای شدن مربوط به تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA با ۵۵/۵۵ درصد شاخه‌زایی و ۳۳/۳۳ درصد کالوس‌زایی و ۱۱/۱۱ درصد قهوه‌ای شدن می‌باشد (شکل ۲).

شاخه‌زایی مهم‌ترین مرحله‌ی ریزازدیادی است و وجود یک دستورالعمل موفق با ظرفیت تکثیر بالا، سرعت و کیفیت ریزازدیادی را به شدت تحت تاثیر قرار می‌دهد. عوامل بسیار زیادی مانند نوع گونه، رقم و ژنوتیپ، محیط کشت، مواد معدنی و آلی، کربوهیدرات‌ها، تنظیم‌کننده‌های رشد و فاکتورهای فیزیکی بر شاخه‌زایی و به طور کلی ریزازدیادی موثر می‌باشند. در فرایند شاخه‌زایی، سیتوکینین‌ها به عنوان

شاخه‌های خوب رشد کرده فاقد آلودگی میکروبی حاصل از مرحله استقرار، به قطعات کوچکتر (یک یا دو گرهی) برش داده شده و به محیط کشت NRM حاوی سطوح مختلف BAP یا TDZ به همراه IBA ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر منتقل شدند. نتایج نشان داد که بین تیمارهای هورمونی مختلف از نظر درصد کالوس‌دهی و درصد قهوه‌ای شدن ریزنمونه‌های تکثیر یافته فندق اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بهترین تیمار از نظر درصد شاخه‌دهی، تیمار هورمونی ۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA با ۵۵/۵۵ درصد ریزنمونه‌های رشد کرده بود (شکل ۲). در برخی از ریزنمونه‌های منتقل شده و در بعضی از محیط‌های کشت، رشد بافت کالوس از محل برش ریزنمونه مشاهده گردید. بیشترین درصد کالوس‌زایی مربوط به تیمار ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA با ۷۷/۷۷ درصد کالوس‌زایی مشاهده گردید که برای تکثیر گیاه مناسب نمی‌باشد (شکل ۲). بیشترین درصد قهوه‌ای شدن

اصلی‌ترین تنظیم‌کننده‌های رشد در نظر گرفته می‌شوند، اگرچه در مواردی غلظت‌های کمی از اکسین‌ها و جیبرلیک اسید نیز به کار برده می‌شوند (۲، ۴ و ۱۳).



شکل ۲- تاثیر سطوح مختلف BAP و TDZ به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA بر رشد جوانه‌های جانبی فندق تهیه شده از ساقه‌های مرحله استقرار

Figure 2- Effect of different levels of BAP and TDZ with 0.05 mg/l IBA on growth of hazelnut auxiliary buds prepared from established shoots

است، به همراه ۱/۵ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA<sub>3</sub> و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA برای مرحله شاخه‌زایی مناسب می‌باشد.

### سپاسگزاری

نویسندگان از سرکار خانم مهندس هاجر فلاحی به دلیل همکاری در تهیه نمونه‌های فندق کمال قدردانی را دارند.

سرعت شاخه‌زایی کم، یکی از عوامل اصلی محدود کننده موفقیت در ریزاریادی فندق می‌باشد (۴). در تحقیق حاضر نیز تفاوت قابل ملاحظه‌ای بین محیط کشت‌های پایه و همچنین نوع و غلظت تنظیم کننده رشد گیاهی وجود داشت. به طوری که، محیط کشت NRM حاوی یک میلی‌گرم بر لیتر BAP به همراه ۰/۰۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA درصد شاخه‌زایی و میانگین تعداد برگ و طول ساقه را برای مرحله تکثیر فراهم آورد (جدول ۱). دامیانو و همکاران (۳) در مطالعه‌ی روی رقم‌های مختلف فندق در ایتالیا گزارش کردند که محیط کشت DKW و MOLT که ترکیبی از محیط DKW و WPM

### منابع

- Anderson W.C. 1983. Micropropagation of filbert (*Corylus avellana*). Proceedings of the International Plant Propagators Society, 33: 132-139.
- Bhojwani S.S., and Razdan M.K. 1996. Clonal Propagation. p. 483-536. In S.S. Bhojwani and M.K. Razdan (ed.) Plant Tissue Culture: Theory and Practice. A Revised Edition. Elsevier, Amsterdam.
- Damiano C., Catenaro E., Ginovinazzi A., and Caboni E. 2005. Micropropagation of hazelnut (*corylus avellana*). Acta Horticulture, 686:226-227.
- Diaz-Sala C., Rey M., and Rodriguez R. 1994. Temporary modification of adult filbert proliferation capacity by sequential subcultures: intensive pruning as a pre-treatment for in vitro reinvigoration. Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 69:673-678.
- Driver J.A., and Kuniyuki A.H. 1984. In vitro propagation of Paradox walnut *Juglans hindsii* × *Juglans regia* rootstock. Hort Science, 19:507-509.
- Fatima A., and Jabeen Khan S. 2010. Some factors affecting the in vitro growth of *Stevia rebaudiana* Bertoni. Iranian Journal of Plant Physiology, 1:61-68.
- Machakova I., Zazimalova E., and George E.F. 2008. Plant growth regulators I: Introduction; auxins, their

- analogues and inhibitors. p. 175-204. In E.F. George, A.H. Micheal, D.K. Greet-Jan (eds.) Plant propagation by tissue culture. V.1, The background, 3rd ed., Springer.
- 8- Mehlenbacher S.A. 1994. Genetic improvement of the hazelnut. *Acta Horticulturae*, 351:23-37.
  - 9- Murashige T., and Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. *Plant Physiology*, 15:473-497.
  - 10- Nuri Nas M. 2003. Inclusion of polyamines in the medium improves shoot elongation in hazelnut (*Corylus avellana* L.) micropropagation. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 28:189-194.
  - 11- Nuri Nas M., and Read P.E. 2000. Micropropagation of hybrid hazelnut: medium composition, physical state and iron source affect shoot morphogenesis, multiplication and explant vitality. *Acta Horticulturae*, 556:251-258.
  - 12- Nuri Nas M., and Read, P.E. 2003. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher plants and micropropagation of hazelnuts. *Scientia Horticulturae*, 101:189-200.
  - 13- Pati P.K., Rath S.P., Sharma M., Sood A., and Ahuja P.S. 2005. In vitro propagation of rose a review. *Biotechnology Advances*, 24:94-114.
  - 14- Stahl L. 2007. Third crop options hybrid hazelnuts. *Rural Advantage*, 507:238-5449.
  - 15- Thompson M.M., Lagerstedt H.B., and Mehlenbacher A. 1996. Hazelnut. p. 125-184. In j. Janick and j. Moore (ed.) *Fruit Breeding, Volume 3. Nuts*. John Wiley and Sons, New York.
  - 16- Yu X.L., and Reed B.M. 1993. Improved shoot multiplication of mature Hazelnut (*Corylus avellana* L.) in vitro using glucose as a carbon source. *Plant Cell Reports*, 12:256-259.
  - 17- Zhao Y., Li X.L., Amarasinghe A.A.Y., and Yang Y.S. 2009. Influence of physiological state of fresh and dry explants on in vitro culture response in rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agricultural Sciences*, 4:1-6.