



دانشگاه گوار، مشهد

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

جلد بیست و سوم، شماره چهارم، ۱۳۹۵

<http://jopp.gau.ac.ir>

## اثر تیمارهای ایندول اسید بوتیریک و آگروباکتریوم رایزوزنز بر ریشه‌زایی قلمه‌های چوب سخت پایه‌های رویشی MM<sub>106</sub> و EM<sub>9</sub> سیب

\*فهمیه آزموده<sup>۱</sup>، غلامحسین داوری‌نژاد<sup>۲</sup>، نسرين مشتاقی<sup>۳</sup> و حسین آرویی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup>دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، استاد، گروه علوم باغبانی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به‌نژادی گیاهی،

دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۸

### چکیده

**سابقه و هدف:** در میوه‌کاری نوین و صنعتی امروزه پایه پیوندی در میزان تولید، اقتصاد باغ، پیرایش و عمر درختان، برداشت محصول و در پایان در مدیریت باغ نقش اساسی و تعیین کننده‌ای را ایفا می‌نماید. در واقع نیمی از پیکره درخت را پایه تشکیل می‌دهد که درون خاک قرار گرفته و پس از احداث باغ قابل تعویض و بهبود نمی‌باشد. از این نظر گزینش پایه مناسب برای یک رقم و برای شرایط اقلیمی و خاکی یک منطقه همانند گزینش رقم پیوندی دارای اهمیت است. کاربرد و توسعه این پایه‌های رویشی ضروری به نظر می‌رسد و این امر به در دسترس بودن یک روش ساده و آسان تکثیر این پایه‌ها بستگی دارد.

**مواد و روش‌ها:** به‌منظور بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف هورمون اسید ایندول بوتیریک (۰-۱۰۰۰-۲۰۰۰-۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) و آگروباکتریوم رایزوزنز (*Agrobacterium rhizogenes*) نژاد ۱۵۸۳۴ به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر روی ظرفیت ریشه‌زایی قلمه‌های دو پایه رویشی سیب شامل EM<sub>9</sub> و MM<sub>106</sub> آزمایشی به صورت طرح اسپیلت فاکتوریل با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. آگروباکتریوم رایزوزنز به عنوان عامل اصلی و سطوح مختلف اسید ایندول بوتیریک و پایه‌ها به‌صورت فاکتوریل به‌عنوان عوامل فرعی

\*مسئول مکاتبه: [F.azmoode@gmail.com](mailto:F.azmoode@gmail.com)

## نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی (۲۳)، شماره (۴) ۱۳۹۵

در نظر گرفته شدند. در این آزمایش از محیط کشت، مخلوط پرلیت و ماسه ضد عفونی شده به نسبت ۱:۱ استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که درصدهای مختلف ریشه‌زایی در قلمه‌های تیمار شده با آگروباکتریوم رایزوزنز و ترکیب هورمون اسید ایندول بوتیریک به اضافه آگروباکتریوم رایزوزنز به دست آمد در حالی که با کاربرد هورمون به تنهایی، هیچ ریشه‌ای در هر دو نوع پایه رویشی مشاهده نشد. بیشترین میزان ریشه‌زایی (۴۵/۰۶ درصد) در قلمه‌های پایه رویشی EM<sub>9</sub> تیمار شده با آگروباکتریوم رایزوزنز و غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام ایندول بوتیریک اسید بدست آمد. بیشترین میانگین طول ریشه (۴/۴۵ سانتی‌متر) از تیمار آگروباکتریوم رایزوزنز به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید ایندول بوتیریک به دست آمد. بیشترین تعداد ریشه اصلی و فرعی نیز (به ترتیب ۳ و ۶/۵) در پایه رویشی MM<sub>106</sub> تیمار شده با آگروباکتریوم رایزوزنز مشاهده گردید. میزان کالوس‌زایی قلمه‌ها با کاربرد تیمار آگروباکتریوم رایزوزنز کاهش یافت به طوری که بیشترین میانگین درصد کالوس‌زایی (۸۶/۴۲ درصد) در پایه رویشی EM<sub>9</sub> و تیمار شاهد مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** تیمار ترکیبی آگروباکتریوم رایزوزنز به اضافه هورمون اسید ایندول بوتیریک سطح ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام به عنوان بهترین تیمار برای ریشه‌زایی قلمه‌های EM<sub>9</sub> و MM<sub>106</sub> سبب در این آزمایش شناخته شد.

**واژه‌های کلیدی:** قلمه، آگروباکتریوم، پایه‌های مالینگ، ریشه‌زایی، کالوس‌زایی

مقدمه

روش‌های رویشی مختلفی به منظور تکثیر پایه‌های درختان میوه استفاده شده است. یکی از این روش‌ها ریشه‌زایی قلمه‌ها است که این روش به طور معمول برای تکثیر تعدادی از گونه‌های میوه و پایه‌های رویشی استفاده می‌شود. ریشه‌دار کردن قلمه‌های گونه‌های میوه مناطق معتدله بسیار دشوار است. تاکنون تلاش‌های بسیاری به منظور تحریک ریشه‌زایی قلمه‌ها با تیمارهای گوناگون از جمله تیمار با تنظیم کننده‌های رشد گیاهی، کربوهیدرات‌ها و مواد شیمیایی مختلف دیگر صورت گرفته است (۹). هدف استفاده از این مواد برای سرعت بخشیدن به تشکیل ریشه در قلمه‌ها مخصوصاً در گونه‌های سخت ریشه‌زا و افزایش تعداد ریشه و کیفیت در هر قلمه است (۳۸). موفق‌ترین نتایج از تیمار IBA که جزء تنظیم کننده‌های رشد اکسینی می‌باشد به دست آمده است. گزارش‌های بسیاری از محققان حاکی از آن است که IBA برای ریشه‌زایی هر دو قلمه چوب سخت و چوب نرم حیاتی است (۸؛ ۷؛ ۲۷؛ ۳۲؛ ۱۲؛ ۳۵؛ ۳۶). بیشترین موفقیت در ریشه‌زایی قلمه‌ها، خشبی و نیمه خشبی، در گونه‌های کیوی، انجیر و سیب با اجرای تیمار ایندول بوتیریک اسید گزارش شده است. از بین چهار نوع هورمون اکسینی، اسید ایندول بوتیریک<sup>۱</sup>، اسید ایندول استیک<sup>۲</sup>، نفتالن استیک اسید<sup>۳</sup> و اسید تری اکسی کلروفنوکسی استیک<sup>۴</sup> بر ریشه‌زایی پایه مالینگ مرتون ۱۰۶، اثر ایندول بوتیریک اسید نسبت به سایر هورمون‌ها بیشتر است (۱۷).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که برخی از باکتری‌های موجود در جنس‌های *Agrobacterium*، *Bacillus*، *Streptomyces*، *Pseudomonas* و *Alcaligenes* نیز ممکن است تشکیل ریشه را در قلمه‌های ساقه القا کنند (۳؛ ۲۱؛ ۲۲؛ ۱۹؛ ۳۳). در سال‌های اخیر روش‌های سریعی برای به دست آوردن ریشه‌های تراریخته به وسیله *Agrobacterium rhizogene* پاتوژن خاکری که به واسطه انتقال پلاسمید Ri<sup>۵</sup>، باعث تراریختگی ریشه‌ها و ایجاد نظام تولید ریشه‌های موپین در طوقه و یا روی اندام هوایی می‌شود توسعه یافته است (۲۰). این باکتری یک ریزجاندار معمولی خاک است که قابلیت ورود به گیاه را از طریق زخم‌های ایجاد شده دارد و باعث تکثیر ریشه‌های ثانویه می‌شود. چگونگی تشکیل

- 1- Indol Buthyric Acid
- 2- Indol Acetic Acid
- 3- Naphthalene Acetic Acid
- 4- 2.4.5 Tri chlorophenoxy Acid Acetic
- 5- Root inducing

ریشه‌های مویین بر پایه انتقال چندین ژن باکتریایی به ژنوم گیاه است (۱۱) که شامل جایگاه‌های *rol* A, B, C روی پلاسمید Ri باکتری است، که بیان این سه جایگاه ژنی در گیاهان تراریخته سندرم ریشه مویی را به وجود می‌آورد (۳۴). همچنین چندین مطالعه نشان داده است که ریشه‌زایی قلمه‌های تلقیح شده با باکتری می‌تواند با کاربرد خارجی IBA شتاب بیشتری پیدا کند (۳؛ ۱۴).

استفاده از پایه‌های رویشی جهت احداث باغ‌های متراکم برای تولید محصول یکنواخت‌تر ضروری به نظر می‌رسد و به‌ویژه برای سیب، امکان داشتن طیف وسیعی از پایه‌های رویشی کنترل شده با اندازه یکسان را فراهم می‌کند. سیب یک درخت مهم از لحاظ اقتصادی در سراسر جهان است (۲۴؛ ۱) و باید مسائل و مشکلات تکثیر و ازدیاد آن حل شود (۳۷).

ارقام پیوندی روی پایه MM<sub>106</sub> استقرار خوبی دارند، پاجوش نمی‌دهند و نیمه پا کوتاه (۷۵-۶۰ درصد اندازه درختان روی پایه‌های بذری سیب) و بسیار پر محصول هستند (۲۳). EM<sub>9</sub> نیز به‌عنوان پایه رویشی سیب اغلب برای به‌دست آوردن درختان پاکوتاه در جهان استفاده می‌شود. درختان پیوند شده روی EM<sub>9</sub> از ۲/۷ متر تجاوز نمی‌کنند و ۲۰ تا ۴۰ درصد اندازه درختان پیوند شده روی پایه‌های بذری هستند. با این حال EM<sub>9</sub> به‌دلیل سیستم ریشه‌ای ضعیف به تکیه گاهی برای ادامه رشد و باردهی مناسب نیاز دارد. در درختان پاکوتاه نور به اندازه کافی دریافت می‌شود و رنگ‌گیری غالباً خوب میوه‌ها و کیفیت بالای آن‌ها را فراهم می‌کند. در شرایط خوابانیدن به خوبی تکثیر می‌شوند اما ریشه‌دهی از طریق قلمه چوبی بسیار سخت است (۱۵؛ ۱۸).

در مقایسه با هزینه‌های تکثیر به روش خوابانیدن که نیاز به صرف مدت زمان طولانی‌تر و مساحت بیشتری از باغ دارد برای صرفه‌جویی در زمان و زمین باغ که می‌تواند برای تولید میوه سیب مورد استفاده قرار گیرد نیاز به ریشه‌دار کردن این پایه‌ها به روش قلمه در مدت زمان کمتر و مساحت بسیار کمتر است. هدف از این تحقیق، بررسی تأثیر آگروباکتریوم رایزورنژ نژاد ۱۵۸۳۴ و هورمون IBA بر القای ریشه‌های نابجا و بهبود ریشه‌زایی در قلمه‌های چوب سخت مانند پایه‌های رویشی سیب EM<sub>9</sub> و MM<sub>106</sub> بود.

## مواد و روش‌ها

**مواد گیاهی:** مواد گیاهی استفاده شده در این تحقیق از شاخه‌های یک ساله و یکنواخت دو پایه مادری سیب (EM<sub>9</sub> و MM<sub>106</sub>) در مرحله خواب در نهم دی ماه ۱۳۹۲ از باغ ظفر در چناران، واقع در استان خراسان رضوی تهیه شده و پس از آن به‌طور حفاظت شده در حداقل زمان ممکن برای جلوگیری از تنش به گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد منتقل شدند. سپس قلمه‌های خشبی به طول ۱۰ الی ۱۵ سانتی‌متر و ضخامت ۵ الی ۱۰ میلی‌متر که دارای حداقل ۳ الی ۴ جوانه بودند تهیه و آماده شدند. برش ته قلمه درست زیر جوانه و به‌صورت اریب زده شد.

**طرح آزمایش:** این آزمایش به‌صورت اسپیلت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و در هر تکرار ۱۵ الی ۲۰ قلمه به اجرا در آمد. آگروباکتريوم به‌عنوان عامل اصلی در دو سطح (کاربرد آگروباکتريوم و عدم کاربرد آن) و سطوح مختلف IBA (۰-۱۰۰۰-۲۰۰۰-۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) و پایه (EM<sub>9</sub> و MM<sub>106</sub>) به‌صورت فاکتوریل به‌عنوان عوامل فرعی در نظر گرفته شدند.

**بستر کشت:** برای بستر کشت قلمه‌ها از ترکیب پرلیت و ماسه به نسبت ۱:۱ استفاده شد. ماسه استفاده شده برای بستر کشت قبل از استفاده به‌طور کامل شسته شده و در اتوکلاو ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت و نیم ضد عفونی گردید. در زیر بستر کشت لوله‌های آب گرم (سیستم پاگرما) تعبیه شد تا دمای بستر را برای ریشه‌زایی قلمه‌ها در زمستان مناسب کند. آگروباکتريوم رایزوزنز نژاد ۱۵۸۳۴ از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی جهاد دانشگاهی مشهد تهیه شد و در محیط کشت LB کشت، و بعد از حدود ۴۸ ساعت و رسیدن به دانسیته مناسب و مدنظر از باکتری OD=۰/۷-۱، به گلخانه انتقال داده شد.

**تیماردهی قلمه‌ها:** به‌منظور ریشه‌زایی قلمه‌ها از تیمارهای مختلف استفاده شد. برای تیمار IBA، هورمون اسید ایندول بوتیریک در چهار سطح (۰-۱۰۰۰-۲۰۰۰-۳۰۰۰ پی‌پی‌ام) تهیه و ۱ الی ۲ سانتی‌متر از ته قلمه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در غلظت‌های مختلف هورمون فرو برده شد و سپس در بستر کشت قرار گرفت. برای قلمه‌های گروه شاهد نیز از آب مقطر استفاده شد. برای تیمار آگروباکتريوم ته قلمه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در محلول باکتریایی فرو برده شد، و سپس آن‌ها را خارج کرده و بعد از خشک شدن در هوای آزاد در بستر کشت قرار گرفتند. برای اعمال تیمار ترکیبی هورمون و باکتری، ابتدا ته قلمه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در محلول هورمون قرار گرفت و سپس قلمه‌ها را خارج کرده و اجازه

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی (۲۳)، شماره (۴) ۱۳۹۵

داده شد تا در هوای آزاد خشک شوند. در مرحله بعد قلمه‌هایی که دارای تیمار هورمونی بوده را به مدت ۳۰ دقیقه در محلول باکتریایی غوطه‌ور نموده و پس از خروج اجازه داده شد در هوای آزاد خشک شوند و سپس در بستر کشت قرار گرفتند. بستر کشت قبل از کاشت قلمه‌ها، آب پاشی و مرطوب شد و سپس قلمه‌ها درون بستر به فاصله ۳ الی ۴ سانتی‌متر از هم، به گونه‌ای کشت شدند که دو سوم قلمه داخل بستر کشت قرار بگیرد. برای جلوگیری از شسته شدن آگروباکتریوم، قلمه‌ها به مدت ۲۴ ساعت آبیاری نشدند و پس از آن آبیاری به صورت روزانه انجام گرفت.

**داده‌برداری و تجزیه و تحلیل داده‌ها:** پس از ۹۰ روز قلمه‌ها به منظور بررسی درصد ریشه‌زایی، درصد کالوس‌زایی، طول ریشه، تعداد ریشه اصلی، تعداد ریشه فرعی، وزن تر و وزن خشک ریشه به آرامی از بستر خارج شدند. داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار  *JMP 8* تجزیه آماری شده و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون توکی و رسم نمودارها با *Excel* انجام شد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثر آگروباکتریوم، IBA و پایه و برهمکنش آن‌ها بر صفات مورد مطالعه پایه‌های رویشی سیب.

Table 1. Analysis of variance for studied triats of apple rootstocks as affected by *Agrobacterium*, IBA and rootstock and their interaction.

درصد کالوس‌زایی Callusing	درصد ریشه‌زایی Rooting	وزن خشک ریشه Dry weight of root	وزن تر ریشه Fresh weight of root	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	تعداد ریشه اصلی N. of primary root	طول ریشه Root length	درجه آزادی df	منابع تغییرات S.O.V
62/40 <sup>ns</sup>	9956/44**	0/0048**	0/1774**	135/83**	50/33**	125/76**	1	آگروباکتریوم <i>Agrobacterium (a)</i>
105/12	0/25	0/00001	0/0021	4/05	0/09	0/24	4	خطای عامل اصلی Error Main factor (b)
549/92*	104/99**	0/0002*	0/0225**	38/21**	0/31 <sup>ns</sup>	6/64**	1	پایه Rootstock (c)
18/67 <sup>ns</sup>	138/63**	0/00007 <sup>ns</sup>	0/0062**	3/06**	0/71**	2/03**	3	اسید ایندول بوتیریک IBA
12/03 <sup>ns</sup>	104/99**	0/0002*	0/0225**	38/21**	0/31 <sup>ns</sup>	6/64**	1	آگروباکتریوم×پایه a×b
324/51*	138/63**	0/00007 <sup>ns</sup>	0/0062**	3/06**	0/71**	2/03**	3	آگروباکتریوم×IBA×a×c
24/64 <sup>ns</sup>	30/36**	0/00002 <sup>ns</sup>	0/0006 <sup>ns</sup>	2/68**	0/91**	0/42 <sup>ns</sup>	3	پایه×IBA×b×c
51/94 <sup>ns</sup>	30/36**	0/00002 <sup>ns</sup>	0/0006 <sup>ns</sup>	2/68**	0/91**	0/42 <sup>ns</sup>	3	آگروباکتریوم×پایه×IBA×a×b×c
87/30	1/11	0/00004	0/0005	0/58	0/09	0/20	28	خطای عوامل فرعی Error Subsidiary factors

ns: Non significant, \* and \*\*: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده آگروباکتریوم و IBA و پایه و همچنین برهمکنش آن‌ها روی صفت درصد ریشه‌زایی معنی‌دار شد ولی در صفت درصد کالوس‌زایی فقط اثر ساده پایه و برهمکنش اثر آگروباکتریوم در IBA نتایج معنی‌داری نشان می‌دهد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر ساده تیمارهای آگروباکتریوم، IBA و پایه‌های سیب بر میانگین صفت‌های مختلف اندازه‌گیری شده.

Table 2. Effect of *Agrobacterium*, IBA and apples rootstocks treatments on mean of measured different traits.

درصد کالوس‌زایی Callusing	درصد ریشه‌زایی Rooting	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن تر (گرم) Fresh weight (gr)	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	تعداد ریشه اصلی N. of primary root	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	سطح تیمار Treatment levels	تیمار treatment
۷۸/۳۲ <sup>b</sup>	۲۸/۸۱ <sup>a</sup>	۰/۰۲۰ <sup>۱a</sup>	۰/۱۲۱۶ <sup>a</sup>	۳/۳۶ <sup>a</sup>	۲/۰۴ <sup>a</sup>	۳/۲۳ <sup>a</sup>	A <sub>1</sub>	آگروباکتریوم
۸۰/۶۰ <sup>a</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	. <sup>b</sup>	A <sub>0</sub>	A.
۷۹/۱۵ <sup>a</sup>	۱۱/۲۰ <sup>c</sup>	۰/۰۱۰۳ <sup>a</sup>	۰/۰۴۵۷ <sup>b</sup>	۱/۷۹ <sup>ab</sup>	۱/۲۰ <sup>a</sup>	۱/۴۵ <sup>b</sup>	.	IBA
۸۰/۵۰ <sup>a</sup>	۱۲/۲۶ <sup>c</sup>	۰/۰۱۰۱ <sup>a</sup>	۰/۰۶۴۴ <sup>b</sup>	۱/۴۱ <sup>b</sup>	۱/۰۸ <sup>a</sup>	۱/۴۷ <sup>b</sup>	۱۰۰۰	(بی‌پی‌ام)
۸۰/۳۶ <sup>a</sup>	۱۵/۴۳ <sup>b</sup>	۰/۰۰۶۸ <sup>a</sup>	۰/۰۴۱۵ <sup>b</sup>	۱/۱۸ <sup>b</sup>	۰/۶۶ <sup>b</sup>	۱/۳۱ <sup>b</sup>	۲۰۰۰	(ppm)
۷۷/۸۲ <sup>a</sup>	۱۸/۷۴ <sup>a</sup>	۰/۰۱۲۹ <sup>a</sup>	۰/۰۹۱۴ <sup>a</sup>	۲/۳۴ <sup>a</sup>	۱/۱۵ <sup>a</sup>	۲/۲۲ <sup>a</sup>	۳۰۰۰	
۸۲/۸۴ <sup>a</sup>	۱۵/۸۹ <sup>a</sup>	۰/۰۰۷۳ <sup>b</sup>	۰/۰۳۹۱ <sup>b</sup>	۰/۷۹ <sup>b</sup>	۰/۹۴ <sup>a</sup>	۱/۲۴ <sup>b</sup>	EM <sub>9</sub>	پایه
۷۶/۰۸ <sup>b</sup>	۱۲/۹۳ <sup>b</sup>	۰/۰۱۲۴ <sup>a</sup>	۰/۰۸۲۴ <sup>a</sup>	۲/۵۷ <sup>a</sup>	۱/۱۰ <sup>a</sup>	۱/۹۹ <sup>a</sup>	MM <sub>106</sub>	Rootstock

A<sub>0</sub> و A<sub>1</sub> به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم، حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد (وزن خشک و درصد کالوس‌زایی) و ۱ درصد (سایر صفت‌ها) می‌باشد.

A<sub>1</sub> and A<sub>0</sub> respectively with and without application of *Agrobacterium*, different letters in each column indicate significant differences by Tukey test at the 5% level (dry weight and callusing) and 1% (other traits).

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی (۲۳)، شماره (۴) ۱۳۹۵

جدول ۳- مقایسه اثر متقابل آگروباکتریوم × پایه‌های مختلف بر میانگین صفت‌های مورد مطالعه.

Table 3. Effect of interaction *Agrobacterium* × different rootstocks on mean of studied traits.

درصد ریشه‌زایی Rooting	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	وزن تر (گرم) Fresh weight (gr)	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	پایه Rootstock	سطوح آگروباکتریوم Level A.
۳۱/۷۷ <sup>a</sup>	۰/۰۱۵۳ <sup>b</sup>	۰/۰۷۸۲ <sup>b</sup>	۱/۵۸ <sup>b</sup>	۲/۴۹ <sup>b</sup>	EM <sub>9</sub>	A <sub>1</sub>
۲۵/۸۵ <sup>b</sup>	۰/۰۲۴۸ <sup>a</sup>	۰/۱۶۴۹ <sup>a</sup>	۵/۱۵ <sup>a</sup>	۳/۹۸ <sup>a</sup>	MM <sub>106</sub>	
۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	EM <sub>9</sub>	A <sub>0</sub>
۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	MM <sub>106</sub>	

A<sub>1</sub> و A<sub>0</sub> به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم، حروف متفاوت در هر ستون نشان دهنده اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد (وزن خشک) و ۱ درصد (سایر صفت‌ها) می‌باشد.

A<sub>1</sub> and A<sub>0</sub> respectively with and without application of *Agrobacterium*, different letters in each column indicate significant differences by Tukey test at the 5% level (dry weight) and 1% (other traits).

جدول ۴- مقایسه اثر متقابل تیمار آگروباکتریوم × سطوح مختلف IBA بر میانگین صفت‌های مورد مطالعه.

Table 4. Effect of interaction *Agrobacterium* × different level of IBA on mean of studied traits.

درصد کالوس‌زایی Callusing	درصد ریشه‌زایی Rooting	وزن تر (گرم) Fresh weight (gr)	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	تعداد ریشه اصلی N. of primary root	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	غلظت IBA (بی‌بی‌ام) IBA Concentrations (ppm)	سطوح آگروباکتریوم Level A.
۷۱/۸۸ <sup>c</sup>	۲۲/۴۰ <sup>d</sup>	۰/۰۹۱۴ <sup>bc</sup>	۳/۵۸ <sup>ab</sup>	۲/۴۰ <sup>a</sup>	۲/۹۱ <sup>b</sup>	۰	A <sub>1</sub>
۷۷ <sup>abc</sup>	۲۴/۵۲ <sup>c</sup>	۰/۱۲۸۹ <sup>b</sup>	۲/۸۳ <sup>b</sup>	۲/۱۶ <sup>a</sup>	۲/۹۴ <sup>b</sup>	۱۰۰۰	
۸۲/۵۱ <sup>abc</sup>	۳۰/۸۶ <sup>b</sup>	۰/۰۸۳۱ <sup>c</sup>	۲/۳۶ <sup>b</sup>	۱/۳۳ <sup>b</sup>	۲/۶۳ <sup>b</sup>	۲۰۰۰	
۸۱/۸۹ <sup>abc</sup>	۳۷/۴۷ <sup>a</sup>	۰/۱۸۲۹ <sup>a</sup>	۴/۶۸ <sup>a</sup>	۲/۳۰ <sup>a</sup>	۴/۴۵ <sup>a</sup>	۳۰۰۰	
۸۶/۴۲ <sup>a</sup>	۰/۰۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰	A <sub>0</sub>
۸۴/۰۱ <sup>ab</sup>	۰/۰۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۱۰۰۰	
۷۸/۲۱ <sup>abc</sup>	۰/۰۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۲۰۰۰	
۷۳/۷۵ <sup>bc</sup>	۰/۰۰ <sup>e</sup>	۰/۰۰ <sup>d</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۰/۰۰ <sup>c</sup>	۳۰۰۰	

A<sub>1</sub> و A<sub>0</sub> به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم حروف متفاوت در هر ستون نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد (درصد کالوس‌زایی) و ۱ درصد (سایر صفت‌ها) می‌باشد.

A<sub>1</sub> and A<sub>0</sub> respectively with and without application of *Agrobacterium*, different letters in each column indicate significant differences by Tukey test at the 5% level (callusing) and 1% (other traits).



جدول ۵- مقایسه اثر متقابل پایه‌های مختلف × سطوح مختلف IBA بر میانگین صفت‌های مورد مطالعه.

Table 5. Effect of interaction different rootstocks × different level of IBA on mean of studied traits.

درصد ریشه‌زایی	تعداد ریشه فرعی	تعداد ریشه اصلی	غلظت IBA (پی‌پی‌ام)	پایه
Rooting	N. of secondary root	N. of primary root	IBA Concentrations (ppm)	Rootstocks
11/89 <sup>ef</sup>	0/33 <sup>c</sup>	0/90 <sup>bcd</sup>	0	EM <sub>9</sub>
12/51 <sup>de</sup>	0/41 <sup>c</sup>	1/33 <sup>abc</sup>	1000	
16/61 <sup>b</sup>	0/86 <sup>c</sup>	0/70 <sup>d</sup>	2000	
22/53 <sup>a</sup>	1/54 <sup>bc</sup>	0/83 <sup>cd</sup>	3000	
10/51 <sup>e</sup>	25/3 <sup>a</sup>	1/50 <sup>a</sup>	0	MM <sub>106</sub>
12/01 <sup>ef</sup>	2/41 <sup>ab</sup>	0/83 <sup>cd</sup>	1000	
14/25 <sup>cd</sup>	1/50 <sup>bc</sup>	0/62 <sup>d</sup>	2000	
14/94 <sup>bc</sup>	3/13 <sup>a</sup>	1/46 <sup>ab</sup>	3000	

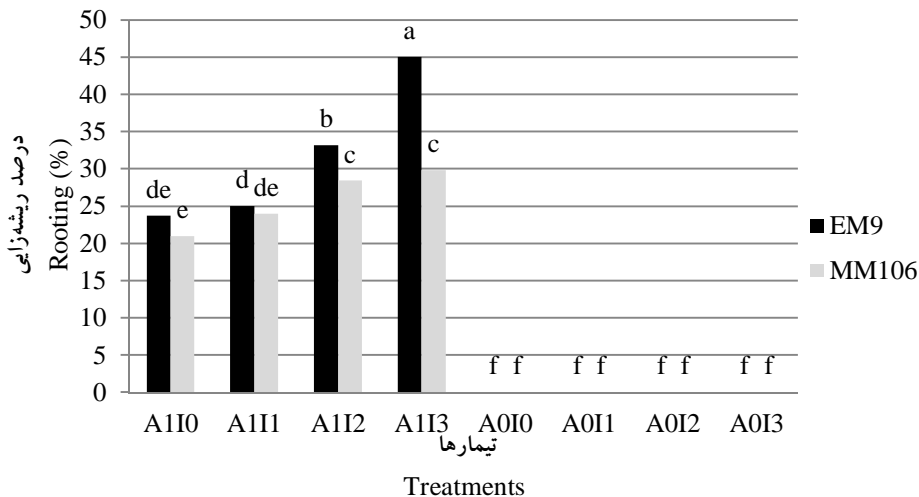
میانگین‌های دارای حروف مشابه در داخل هر ستون با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

Means within a column followed by the same letters are not significantly different using Tukey test at 1% probability level.

**درصد ریشه‌زایی:** مقایسه آماری میانگین‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر ساده تیمار آگروباکتریوم رایزوزنز بر درصد ریشه‌زایی (۲۸/۸۱ درصد) در مقایسه با عدم کاربرد آگروباکتریوم رایزوزنز به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P \leq 0/01$ ). گزارش‌ها حاکی از آن است که ممکن است در ژنوتیپ‌های چوبی مقاوم توسط تلقیح با نژادهای آگروباکتریوم ریشه‌های نابجا القا شوند. باسیل و همکاران (۱۹۹۱) نشان دادند که درصد ریشه‌زایی قلمه‌های ساقه فندق وقتی که با نژادهای آگروباکتریوم تلقیح شده بودند، بالاتر بود (۳). چن و همکاران (۲۰۰۴) تشکیل ریشه را در قلمه‌های جمع‌آوری شده از درختان مسن *Taxus mairei*، به وسیله IBA و سه نژاد از *A. rhizogenes* (R1600, R1601, R15834) الفا کردند و نشان دادند تعداد ریشه در گیاهان تیمار شده توسط آگروباکتریوم رایزوزنز، ۲ تا ۳ برابر بیشتر از گیاهان شاهد و ۱/۵ تا ۱/۱۱ برابر بیشتر از گیاهان تیمار شده با IBA بوده است (۶). مکافی و همکاران (۱۹۹۳) نشان دادند که ریشه‌دهی مویی کاج وقتی که آن‌ها با نژادهای آگروباکتریوم تلقیح شده بودند بالاتر بود (۲۵). عزیزی و همکاران (۱۳۸۶) در آزمایشی که روی ریشه‌زایی برخی گیاهان باغبانی در تلقیح با *A. rhizogenes* انجام دادند بیشترین درصد ریشه‌زایی را از قلمه‌های تیمار شده این گیاهان با آگروباکتریوم گزارش کردند (۲). مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۱۸/۷۴ درصد) و کمترین (۱۱/۲۰ درصد) ریشه‌زایی به ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام و شاهد

به‌دست آمدند ( $P \leq 0/01$ ). در اغلب مواردی که در آن ریشه‌های نابجا می‌توانند در ژنوتیپ‌های چوبی مقاوم القا شوند دریافته‌اند که اکسین خارجی می‌تواند مفید باشد. فالاسکا و همکاران (۲۰۰۰) نشان دادند که ریشه‌زایی قلمه‌های گردوی تلقیح شده‌ی باکتریایی با تیمار IBA خارجی افزایش پیدا کرد (۱۴). ارسیسلائی و همکاران (۲۰۰۴) نشان دادند که قلمه‌های ژنوتیپ‌های رز تیمار شده با آگروباکتریوم روبی به اضافه هورمون IBA ریشه‌زایی بهتری از قلمه‌های تیمار شاهد دارند (۱۳). میانگین درصد ریشه‌زایی در پایه EM<sub>9</sub> (۱۵/۸۹ درصد) بیشتر از پایه MM<sub>106</sub> (۲۷/۹۳ درصد) بود ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین درصد ریشه‌زایی (۳۱/۷۷ درصد) در کاربرد آگروباکتریوم در پایه EM<sub>9</sub> به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ۴) نشان می‌دهد که بیشترین میانگین درصد ریشه‌زایی (۳۷/۴۷ درصد) از تیمار آگروباکتریوم به اضافه هورمون ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام، به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ( $P \leq 0/01$ ). نشان داده شده است که اکسین آغازش ریشه‌های جانبی و نابجا را به‌دلیل اثر خود در تقسیم سلولی تحریک می‌کند. بنابراین انتظار می‌رود کاربرد خارجی اکسین از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی مثل IBA تشکیل ریشه را در قلمه‌هایی که برای تکثیر گیاهان استفاده می‌شوند، القا کند. برخی از محققان گزارش کرده‌اند که این باکتری ایندول-۳-استیک اسید IAA تولید می‌کند (۱۶). محققان دیگر، ارکان و همکاران (۱۹۹۹) نیز بیان کردند که اثر اکسینی مشاهده شده توسط آگروباکتریوم رایزوزنز ناشی از افزایش حساسیت اکسین سلولی و نه افزایش تولید اکسین است (۱۱). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف و سطوح هورمون IBA (جدول ۵) نشان می‌دهد که بیشترین ریشه‌زایی (۲۲/۵۳ درصد) در پایه EM<sub>9</sub> از تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین ریشه‌زایی (۱۰/۵۱ درصد) در پایه MM<sub>106</sub> از تیمار شاهد به‌دست آمد ( $P \leq 0/01$ ). این نتایج با نتایج پارمار و آیر (۱۹۸۹) که مشکلات کلی در ریشه‌زایی میوه‌های مناطق معتدله به خاطر بافت‌های سختشان را تشریح کرده بودند، مطابقت می‌کند (۲۹). گذشته از این قابلیت ریشه‌زایی قلمه‌های سیب و همچنین سایر میوه‌های مناطق معتدله منحصرًا تحت تأثیر تیمارهای خارجی همراه با استعداد ارقام و شرایط محیطی است. اکسین از تیمارهای خارجی است که تأثیر ویژه‌ای دارد (۱۶). شکل ۱ نشان می‌دهد که بیشترین درصد ریشه‌زایی (۴۵/۰۶ درصد) در پایه EM<sub>9</sub> با کاربرد تیمار آگروباکتریوم به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام IBA

به دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به دست نیامد ( $P \leq 0/01$ ). ارسیسلاهی و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی که روی تشکیل ریشه نابجای کیوی فروت انجام دادند، بهترین درصد ریشه‌زایی را در تیمار ترکیبی آگروباکتریوم روی نژاد A18 به اضافه هورمون ۴۰۰۰ پی‌پی‌ام گزارش کردند (۱۲). این نتایج با نتایج محققان دیگر که قبلاً گزارش شده است مطابقت دارد. باسیل و همکاران (۱۹۹۱)، بنویدس و رادیک (۱۹۹۸)، اسیتکن و همکاران (۲۰۰۳) نشان دادند که ترکیب تیمارهای هورمون IBA به اضافه باکتری، ریشه‌زایی قلمه‌ها را بیشتر از تیمار با IBA یا باکتری به تنهایی افزایش می‌دهد (۳؛ ۴؛ ۱۰).



شکل ۱- اثر سه گانه آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف و سطوح IBA روی درصد ریشه‌زایی.

Figure 1. Triple effect of *Agrobacterium*, different rootstocks and levels of IBA on rooting  $A_0$  and  $A_1$  به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم و  $I_0, I_1, I_2$  و  $I_3$  نشان‌دهنده سطوح شاهد، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام از IBA می‌باشند.

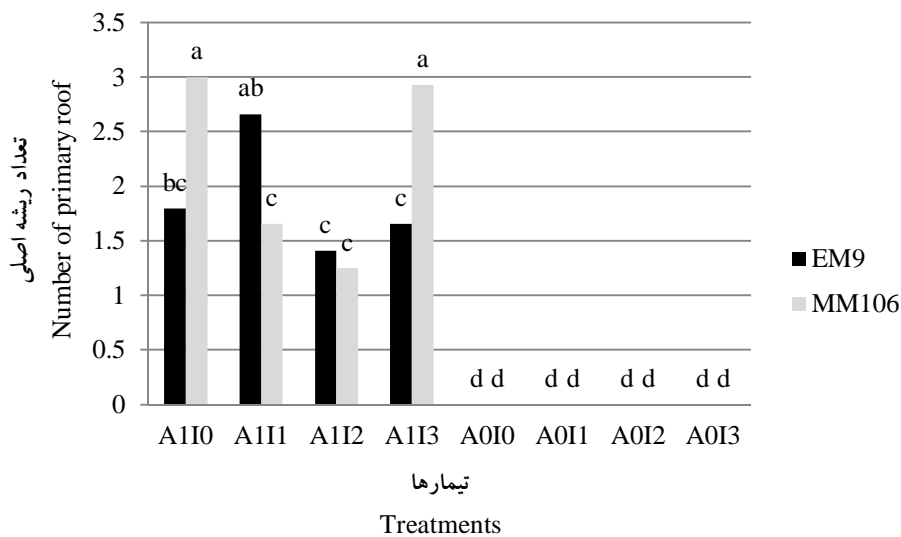
$A_1$  and  $A_0$  respectively with and without application of *Agrobacterium* and  $I_0, I_1, I_2$  and  $I_3$  Indicate the control levels, 1000, 2000 and 3000 ppm of IBA are.

طول ریشه: اثر تیمار آگروباکتریوم بر صفت طول ریشه (جدول ۲) نشان داد که میانگین طول ریشه (۳/۲۳ سانتی‌متر) در کاربرد آگروباکتریوم رایزوزنز نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P \leq 0/01$ ). بیشترین و کمترین میانگین طول ریشه به ترتیب با (۲/۲۲)

سانتی‌متر) و (۱/۳۱ سانتی‌متر) در غلظت‌های ۳۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام IBA به‌دست آمد که غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام با بقیه غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ( $P \leq 0/01$ ). میانگین طول ریشه در پایه MM<sub>106</sub> با (۱/۹۹ سانتی‌متر) طول، بیشتر از پایه M<sub>9</sub> (۱/۲۴ سانتی‌متر) بود ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم رایزوزنز و پایه‌های مختلف در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین طول ریشه در کاربرد آگروباکتریوم رایزوزنز در پایه MM<sub>106</sub>، (۳/۹۸ سانتی‌متر) به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم رایزوزنز و سطوح هورمون IBA در جدول ۴ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین طول ریشه (۴/۴۵ سانتی‌متر) از تیمار آگروباکتریوم رایزوزنز به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به‌دست آمد که با بقیه تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت و با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ( $P \leq 0/01$ ). اسپتکن و همکاران (۲۰۰۳) در آزمایشی که روی تشکیل ریشه نابجا در قلمه‌های چوب نرم و نیمه خشبی آلبالو انجام دادند، بیشترین طول را در هر دو قلمه‌های چوب نرم و نیمه خشبی از تیمارهای ترکیبی باکتریایی به اضافه هورمون گزارش کردند (۱۰). در بررسی دیگری که کاراکوت و همکاران (۲۰۰۹) روی ریشه‌زایی قلمه‌های چوب سخت MM<sub>106</sub> انجام دادند بیشترین طول ریشه را در تیمار آگروباکتریوم روبی‌نژاد A18 به اضافه کربوهیدرات گلوکز گزارش کردند (۲۳).

**تعداد ریشه اصلی:** اثر تیمار آگروباکتریوم بر صفت تعداد ریشه اصلی نشان داد که میانگین تعداد ریشه اصلی در کاربرد آگروباکتریوم رایزوزنز (۲/۰۴) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P \leq 0/01$ ) مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۱/۲۰) و کمترین (۰/۶۶) میانگین تعداد ریشه اصلی به‌ترتیب در تیمار شاهد و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌دست آمدند که غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام با بقیه غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر پایه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری بین پایه‌ها نشان نداد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ۴) نشان می‌دهد بیشترین میانگین تعداد ریشه اصلی (۲/۴۰) از تیمار آگروباکتریوم به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف در سطوح هورمون IBA (جدول ۵) نشان می‌دهد که بیشترین (۱/۵) و کمترین (۰/۶۲) میانگین تعداد ریشه اصلی در پایه MM<sub>106</sub> به‌ترتیب از تیمار شاهد و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به‌دست آمد ( $P \leq 0/01$ ). اثر سه گانه

آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف و سطوح هورمون IBA روی تعداد ریشه اصلی (شکل ۲) نشان می‌دهد که بیشترین تعداد ریشه اصلی (۳) در پایه MM<sub>106</sub> در تیمار آگروباکتریوم به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به‌دست نیامد ( $P \leq 0.01$ ). با بررسی همه جداول و مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌شود که بیشترین تعداد ریشه اصلی از تیمار آگروباکتریوم رایزورتنز ۱۵۸۳۴ در پایه MM<sub>106</sub> به‌دست آمده است.



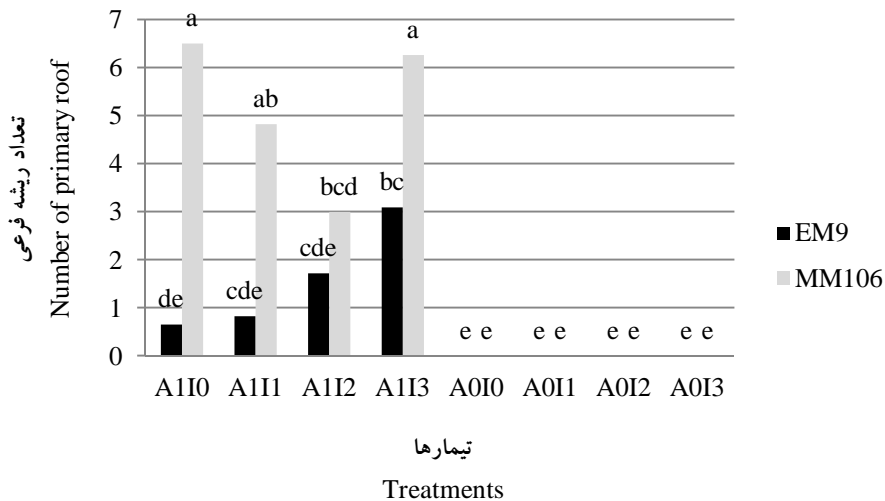
شکل ۲- اثر سه گانه آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف و سطوح IBA روی تعداد ریشه اصلی.

Figure 2. Triple effect of *Agrobacterium*, different rootstocks and levels of IBA on number of primary root. A<sub>0</sub> and A<sub>1</sub> به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم و I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub> نشان‌دهنده سطوح شاهد، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام از IBA می‌باشند.

A<sub>1</sub> and A<sub>0</sub> respectively with and without application of *Agrobacterium* and I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub> Indicate the control levels, 1000, 2000 and 3000 ppm of IBA are.

تعداد ریشه فرعی: مقایسه میانگین اثر تیمارها بر صفت تعداد ریشه فرعی (جدول ۲) نشان می‌دهد که، میانگین تعداد ریشه فرعی در کاربرد آگروباکتریوم رایزورتنز (۳/۳۶) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ( $P \leq 0.01$ ). این نتایج با یافته‌های ارکان و

همکاران (۱۹۹۹) که ثابت کردند بیشترین تعداد ریشه جمعیت‌های روناس<sup>۱</sup> بعد از تلقیح توسط آگروباکتریوم رایزوزنز نژادهای 15834, 2628, R1000 و 9365 تولید شدند، مطابقت دارد (۱۱). همچنین سیسر و بر (۱۹۸۷) مشاهده کردند که بذره‌های سیب وقتی که با نژادهای باکتریایی تیمار شدند ریشه‌های جانبی بهتری می‌دهند (۵). مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۲/۳۴) و کمترین (۱/۱۸) میانگین تعداد ریشه فرعی به ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به دست آمدند ( $P \leq 0/01$ ) میانگین تعداد ریشه فرعی در پایه MM<sub>106</sub> (۲/۵۷) بیشتر از پایه EM<sub>9</sub> (۰/۷۹) بود ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میانگین تعداد ریشه فرعی در کاربرد آگروباکتریوم در پایه MM<sub>106</sub> (۵/۱۵) بدست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ۴) نشان می‌دهد بیشترین تعداد ریشه فرعی (۴/۶۸) از تیمار آگروباکتریوم به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون بدست آمد و با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ( $P \leq 0/01$ ). اسپتکن و همکاران (۲۰۰۳)، نیز در بررسی که روی تشکیل ریشه نابجا در قلمه‌های آلبالو انجام دادند، بیشترین تعداد ریشه را در تیمار ترکیبی *Agrobacterium rubi* A16 به اضافه هورمون IBA و کمترین تعداد ریشه را در تیمار کنترل گزارش کردند (۱۰). اورهان و همکاران (۲۰۰۶) نیز در آزمایشی روی بذره‌های بادام بیشترین تعداد ریشه‌های جانبی را از تیمارهای ترکیبی باکتریایی گزارش کردند (۲۸). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف در سطوح هورمون IBA (جدول ۵) نشان می‌دهد که بیشترین (۳/۲۵) و کمترین (۰/۳۳) میانگین تعداد ریشه فرعی به ترتیب در پایه MM<sub>106</sub> و EM<sub>9</sub> از تیمار شاهد هورمون به دست آمدند ( $P \leq 0/01$ ). شکل ۳ نشان می‌دهد که بیشترین میانگین تعداد ریشه فرعی (۶/۵) در پایه MM<sub>106</sub> در تیمار آگروباکتریوم به دست آمده در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به دست نیامد ( $P \leq 0/01$ ).



شکل ۳- اثر سه گانه آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف و سطوح IBA روی تعداد ریشه فرعی.

Figure 3. Triple effect of *Agrobacterium*, different rootstocks and levels of IBA on number of secondary root.

A<sub>0</sub> و A<sub>1</sub> به ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم و I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> و I<sub>3</sub> نشان‌دهنده سطوح شاهد، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام از IBA می‌باشند.

A<sub>1</sub> and A<sub>0</sub> respectively with and without application of *Agrobacterium* and I<sub>0</sub>, I<sub>1</sub>, I<sub>2</sub> and I<sub>3</sub> Indicate the control levels, 1000, 2000 and 3000 ppm of IBA are.

وزن تر و وزن خشک ریشه: مقایسه میانگین اثر تیمارها بر صفت وزن تر و وزن خشک (جدول ۲) نشان می‌دهد که، میانگین وزن تر و وزن خشک در کاربرد آگروباکتریوم رایزوزنز به ترتیب (۰/۱۲۱۶ گرم و ۰/۰۲۰۱ گرم) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به طور معنی‌داری بیشتر بود (P≤۰/۰۱). مقایسه میانگین اثر ساده تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۰/۰۹۱۴ گرم) و کمترین (۰/۰۴۱۵ گرم) میانگین وزن تر به ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به دست آمدند (P≤۰/۰۱). میانگین وزن تر در پایه MM<sub>106</sub> (۰/۰۸۲۴ گرم) بیشتر از پایه EM<sub>9</sub> (۰/۰۳۹۱ گرم) بود (P≤۰/۰۱). میانگین وزن خشک نیز در پایه MM<sub>106</sub> (۰/۰۱۲۴ گرم) بیشتر از پایه EM<sub>9</sub> (۰/۰۰۷۶ گرم) بود (P≤۰/۰۵). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میانگین وزن تر در کاربرد آگروباکتریوم در پایه MM<sub>106</sub> (۰/۱۶۴۹ گرم) به دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد (P≤۰/۰۱). بیشترین

میانگین وزن خشک نیز (۰/۰۲۴۸ گرم) در کاربرد آگروباکتریوم در همین پایه بدست آمد ( $P \leq 0/05$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ۴) نشان می‌دهد بیشترین میانگین وزن تر (۰/۱۸۲۹ گرم) از تیمار آگروباکتریوم به اضافه هورمون ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام بدست آمد در حالی که در تیمار عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ( $P \leq 0/01$ ). اورهان و همکاران (۲۰۰۶) در آزمایشی که روی القای ریشه‌های جانبی بذرهای بادام *Nonpareil* و *Texas* انجام دادند گزارش کردند که تیمارهای ترکیبی باکتریایی مؤثرترین از لحاظ هر دو وزن تر و خشک ریشه هستند (۲۸).

**درصد کالوس‌زایی:** وقتی قلمه‌ها در محیط کشت مناسب جهت ریشه‌زایی قرار داده می‌شوند لایه کالوس در بخش پایینی قلمه‌ها ایجاد می‌شود، لایه حفاظتی ناشی از بافت کالوس معمولاً پوسیدن قسمت پایینی قلمه‌ها را به تأخیر می‌اندازد. در برخی موارد لایه کالوس به جذب آب قلمه‌ها کمک می‌کند. از سوی دیگر اطلاعات متفاوتی در رابطه با تأثیر لایه کالوس روی تشکیل ریشه وجود داشته است (۳۰). هارتمن و همکاران (۱۹۹۰) گزارش کردند که تشکیل کالوس و تشکیل ریشه مستقل از یکدیگر می‌باشند (۱۸). در این آزمایش کاربرد آگروباکتریوم رایزورتنز نژاد ۱۵۸۳۴ روی کالوس‌زایی قلمه‌ها مؤثر واقع نشد. مقایسه میانگین اثر آگروباکتریوم رایزورتنز روی درصد کالوس‌زایی (جدول ۲) نشان می‌دهد که تحریک قلمه‌ها به کالوس‌زایی با عدم کاربرد آگروباکتریوم بیشتر از زمانی بود که آگروباکتریوم استفاده شد ولی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. اثر هورمون IBA نیز روی درصد کالوس‌زایی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. میانگین درصد کالوس‌زایی در پایه EM<sub>9</sub> (۸۲/۸۴ درصد) بیشتر از پایه MM<sub>106</sub> (۷۶/۰۸ درصد) بود ( $P \leq 0/01$ ). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و هورمون IBA (جدول ۴) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت هورمون از میزان کالوس‌زایی کاسته می‌شود و بیشترین میانگین درصد کالوس‌زایی (۸۶/۴۲ درصد) در تیمار شاهد هورمونی و همچنین عدم کاربرد آگروباکتریوم و کمترین میزان کالوس‌زایی (۷۱/۸۸ درصد) در تیمار آگروباکتریوم به تنهایی مشاهده می‌شود ( $P \leq 0/05$ ). پیرلاک و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی که روی ریشه‌زایی و EM انجام دادند بیان کردند که کالوس‌زایی در همه تیمارها مشاهده شد ولی بیشترین میزان کالوس‌زایی در کاربرد تیمار A16 به اضافه A18 باکتری به‌دست آمد در حالی که ریشه‌زایی در این تیمار مشاهده نشد. بیشترین ریشه‌زایی از تیمار IBA به تنهایی به‌دست آمد در حالی که میزان تشکیل کالوس بسیار پایین‌تر بود (۳۰).



### نتیجه گیری کلی

در این آزمایش نشان داده شد که تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز تاثیر بسزایی روی ریشه‌زایی دارد به طوری که حتی آگروباکتریوم به تنهایی باعث ریشه‌زایی مطلوب با گستردگی مناسب در این پایه‌ها گردید. با توجه به ریشه‌دار نشدن قلمه‌های این پایه‌ها با تیمار IBA می‌توان نتیجه گرفت که تیمارهای هورمونی استفاده شده به تنهایی برای ریشه‌زایی این گونه قلمه‌های سخت ریشه‌زا کافی نیست، بلکه برای دستیابی به ریشه‌زایی مطلوب باید تیمارهای هورمونی همراه با تیمارهای دیگر مثل تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز به کار گرفته شوند. در این آزمایش بیشترین تعداد قلمه‌های ریشه‌دار شده با بلندترین طول، از تیمار ترکیبی آگروباکتریوم رایزوژنز به اضافه هورمون IBA سطح ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام به دست آمد.

### منابع

1. Aslantas, R. and Karakurt, H. 2007. The changes in vegetative growth, pomological characteristics and chemical contents of some apple cultivars growing in two different altitude sea levels. Turkish V. National Horticulture Congress. 7: 842-846.
2. Azizi, M., Aghabozorgi, M., Tehranifar, A., Zolali, J. and Ghaboli, M. 2007. The study on the Rooting response of some horticultural plants after inoculation with *Agrobacterium rhizogenes*. J Agri. Sci. Technol. (Hortic Sci.). 21(2): 79-88. (in Persian)
3. Bassil, N.V., Proebsting, W.M., Moore, L.W. and Lightfoot, D.A. 1991. Propagation of hazelnut stem cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. J Horticulture Sci. 26(8): 1058-1060.
4. Benavides, M.P. and Radice S. 1998. Root induction in *Simmondsia chiensis* (Link) Schneid. using *Agrobacterium rhizogenes*. Biocell 22(2): 109-114.
5. Caesar, A.J. and Burr, T.J. 1987. Growth promoting of apple seedlings and rootstocks by specific strains of bacteria. Phytopathol. 77: 1583-1588.
6. Chen, K.P., Kuo, S.R. and Ho, C.K. 2004. Growth performance and Taxane content of *Taxus mairei* cuttings with roots induced by *Agrobacterium rhizogenes*. Taiwan J for Sci. 19(2): 133-142.
7. Christov, C. and Koleva, A. 1995. Stimulation of root initiation in hardwood sweet and sour cherry rootstocks (*Prunus mahaleb* L.). Bulg J Plant Physiol. 21(1): 68-72.
8. Delargy, J.A. and Wright, C.E. 1979. Root formation in cuttings on apple in relation to auxin application and to etiolation. New Phytol. 82: 341-347.

9. Doud, S.L. and Carlson, R.F. 1972. Propagation methods of fruit tree cultivars from hardwood cuttings. Hort. Abst. 43: 4178.
10. Esitken, A., Ercisli, S., Sevik, I. and Sahin, F. 2003. Effect of indole-3-butyric acid and different strains of *Agrobacterium rubi* on adventives root formation from softwood and semi-hardwood *Wild Sour cherry* cutting . Turk J Agric Forest. 27: 37-42.
11. Ercan, A.G., Taskin, K.M., Turgut, K. and Yuce, S. 1999. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated hairy root formation in some *Rubia tinctorum* L. populations grown in Turkey. Turk J Bot. 23: 373-378.
12. Ercisli, S., Esitken, A., Cangı, R. and Sahin, F. 2003. Adventitious root formation of kiwi fruit in relation to sampling date, IBA and *Agrobacterium rubi* inoculation. Plant Growth Regul. 41: 133-137.
13. Ercisli, S., Esitken, A. and Sahin, F. 2004. Exogenous IBA and inoculation with *Agrobacterium rubi* stimulate adventitious root formation on hardwood stem cutting of two rose genotypes. J Horti Sci. 39(3): 533-534.
14. Falasca, G., Reverberi, M., Lauri, P., Caboni, E., De Stradis, A. and Altamura, M.M. 2000. How *Agrobacterium rhizogenes* triggers de novo root formation in a recalcitrant woody plant: An integrated histological; ultrastructural and molecular analysis. New Phytol. 145(1): 77-93.
15. Ferree, D.C. and Carlson, R.F. 1987. Apple Rootstocks. Pp107-144, Rom, C.R. and Carlson, R.F. (eds), Rootstocks for Fruit Crops, John Wiley and Sons Inc, New York, U.S.A.
16. Goto, M. 1990. Fundamentals of bacterial plant pathology. Academic Press, Inc, 339p.
17. Hajnajari, H., Pirkhezri, M. and Atashkar, D. 1392. Effect of propagation systems, cutting position and IBA concentrations on rooting of malling merton (106, 111) cuttings. J. Crop Improv. 3: 15-26. (in Persian)
18. Hartman, H., Kester, D.E. and Davies, F.T.Jr. 1990. Plant propagation, principles and practices. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 647p.
19. Hatta, M., Beyl, C.A., Garton, S. and Diner A.M. 1996. Induction of roots on jujube softwood cuttings using *Agrobacterium rhizogenus*. J Horti Sci. 71(6): 881-886.
20. Irannezhad, A., Vatanpour Azghandi, A., Rahnama, H., Jaliani, N., and Bozorgipour, R. 2010. Improvement of rooting and and acclimatization of tissue cultured plantlets of Olive (*Olea europaea* L. cv. Zard) by *Agrobacterium rhizogenes* and *Trichoderma harzianum*. Seed Plant Improv. J. 26-2(1): 85-93. (in Persian)
21. Jacob, M., Plietzsch, A. and Schulze, K. 1991. Results of model trials on the rooting of ornamental trees and shrubs. Gartenbaumagazin. 38(3): 44-46.
22. Jacob, M. and Hamdam, I. 1992. Use of beneficial bacteria for *Pelargonium zonale*. Gartenbaumagazin. 1(3): 105-107.

23. Karakurt, H., Aslantas, H., Ozkan, G. and Guleryuz, M. 2009. Effect of indole-3-butyric acid (IBA) plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and carbohydrates on rooting of hardwood cutting of MM<sub>106</sub> apple rootstock. Afr J Agric Res. 4(2): 60-64.
24. Karakut, H. 2006. Determination of effects of some bacteria strains on fruit setting, fruit properties and plant growth on apple. Ataturk University, Graduate School of Natural and Applied Sciences, Ms Thesis, 86p.
25. McAfee, B.J., White, E.E., Pelcher, L.E. and Lapp, M.S. 1993. Root induction in pine (*pinus*) and Larch (*Larix*) spp. Using *Agrobacterium rhizogenes*. Plant Cell, Tiss Org. 34: 53-62.
26. Nahla, V.B., William, M.P., Larry W.M., and David, A.L. 1991. Propagation of hazelnut stem cutting using *Agrobacterium rhizogenes*. Hortsci. 26(8): 1058-1060.
27. Ofori, D.A., Newton, A.C., Leakey, R.R.B. and Grace, J. 1999. Vegetative propagation of *Milicia excelsa* by leafy stem cuttings: effects of auxin concentration, leaf area and rooting medium. Forest Ecol Manage. 84(1-3): 39-48.
28. Orhan, E., Ercisli, E., Esitken, A. and Sahin, F. 2006. Lateral root induction by bacteria, radical cut off and IBA treatment of Almond cvs. *Texas* and *nonpareil* seedling. Scientific Works of the Lithuanian Institute of Horticulture and Lithuanian University of Agriculture. Sodininkyste Ir Darzininkyste. 25(3): 71-76.
29. Parmar, S.D. and Aier, N.B. 1989. Seasonal rooting behaviour of cuttings of plum cultivars as influenced by IBA treatments. Sci Hortic. 40: 297-303.
30. Pirlak, L., and Baykal, Y. 2009. Effect of IBA and Bacteria (*Agrobacterium rubi* ve *Bacillus OSU 142*) on the rooting of M<sub>9</sub> apple rootstock cutting. International Symposium on Sustainable Development, 9-10 June, Sarajevo. 129-134
31. Pirkhezri, M., Atashkar, D., Hajnajari, H. and Fathi, D. 2010. Effect of different treatments on rooting of apple rootstocks (*Mallus domestica Borkh*). Seed and Plant Product J. 26-2(1): 193-206. (In Persian)
32. Polat, A.A., Durgaç, C. and Kamiloglu, Ö. 2000. The effects of Indole Butyric Acid (IBA) on rooting of fig cuttings (in Turkish with English Abstract). J Agric Sci. 5(1-2): 1-6.
33. Rinallo, C., Mittempergher, L., Frugis, G. and Mariotti, D. 1999. Clonal propagation in the genus *Ulmus*: Improvement of rooting ability by *Agrobacterium rhizogenus* T-DNA genes. J Hort Sci Biotech. 74(4): 502-506.
34. Schmulling, T., Schell, J. and Spena, A. 1988. Single genes from *Agrobacterium rhizogenus* influence plant development. EMBO J. 7(9): 2621-2629.

35. Sebastiani, L. and Tognetti, R. 2004. Growing season and hydrogen peroxide effects on root induction and development in *Olea europaea* L. (cvs 'Frantoio' and 'Gentile di Larino') cuttings. *Sci Hort.* 100: 75-82.
36. Tworkoski, T. and Takeda, F. 2007. Rooting response of shoot cuttings from three peach growth habits. *Sci. Hort.* 115: 98-100.
37. Uosukainen, M. 1992. Rooting and weaning of apple rootstock YP. *Agronomiy* 12: 803-806.
38. Zengibal, H. and Ozcan, M. 2006. The effect of IBA treatments on rooting of hardwood cuttings in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*, A. Chev.) *J. Agric. Sci.* 21(1): 40-43.