نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد بیست و سوم، شماره چهارم، ۱۳۹۵
http://jopp.gau.ac.ir

اثر تیمارهای ایندول اسید بوتیریک و آگروباکتریوم رایزوژنز بر ریشه‌زایی قلمه‌های چوب سخت پایه‌های رویشی MM_{106} و EM_9 سیب

*فهیمه آزموده[۱]، غلامحسین داوری‌نژاد[۲]، نسرین مشتاقی[۳] و حسین آرویی[۲]
[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۲]استاد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، [۳]استادیار، گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۸/۲۶؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٤/۹/۸

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 رایزوژنز *(Agrobacterium rhizogenes)* نژاد ۱۵۸۳٤ به تنهایی و در ترکیب با یکدیگر روی ظرفیت ریشه‌زایی قلمه‌های دو پایه رویشی سیب شامل EM_9 و MM_{106}، آزمایشی به صورت طرح اسپیلت فاکتوریل با ۳ تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد. آگروباکتریوم رایزوژنز به عنوان عامل اصلی و سطوح مختلف اسید ایندول بوتیریک و پایه‌ها به‌صورت فاکتوریل به‌عنوان عوامل فرعی

*مسئول مکاتبه: F.azmoode@gmail.com

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

یافته‌ها: نتایج نشان داد که درصدهای مختلف ریشه‌زایی در قلمه‌های تیمارشده با آگروباکتریوم رایزوژنز و ترکیب هورمون اسید ایندول بوتیریک به اضافه آگروباکتریوم رایزوژنز به دست آمد در حالی که با کاربرد هورمون به تنهایی، هیچ ریشه‌ای در هر دو نوع پایه رویشی مشاهده نشد. بیشترین میزان ریشه‌زایی (٤٥/٠٦ درصد) در قلمه‌های پایه رویشی EM_9 تیمار شده با آگروباکتریوم رایزوژنز و غلظت ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام ایندول بوتیریک اسید بدست آمد. بیشترین میانگین طول ریشه (٤/٤٥ سانتی‌متر) از تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام اسید ایندول بوتیریک به‌دست آمد. بیشترین تعداد ریشه اصلی و فرعی نیز (به‌ترتیب ۳ و ٦/٥) در پایه رویشی MM_{106} تیمار شده با آگروباکتریوم رایزوژنز مشاهده گردید. میزان کالوس‌زایی قلمه‌ها با کاربرد تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز کاهش یافت به‌طوری که بیشترین میانگین درصد کالوس‌زایی (٨٦/٤٢ درصد) در پایه رویشی EM_9 و تیمار شاهد مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: تیمار ترکیبی آگروباکتریوم رایزوژنز به اضافه هورمون اسید ایندول بوتیریک سطح ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌عنوان بهترین تیمار برای ریشه‌زایی قلمه‌های EM_9 و MM_{106} سیب در این آزمایش شناخته شد.

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

مقدمه

روش‌های رویشی مختلفی به‌منظور تکثیر پایه‌های درختان میوه استفاده شده است. یکی از این روش‌ها ریشه‌زایی قلمه‌ها است که این روش به‌طور 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 به‌منظور 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 به‌دست 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؛ ۳٦). 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[1]، اسید ایندول استیک[2]، نفتالن استیک اسید[3] و اسید تری اکسی کلروفنوکسی استیک[4] بر ریشه‌زایی پایه مالینگ مرتون ۱۰٦، اثر ایندول بوتیریک اسید نسبت به سایر هورمون‌ها بیشتر است (۱۷).

مطالعات اخیر نشان می‌دهد که برخی از باکتری‌های موجود در جنس‌های *Agrobacterium, Bacillus, Streptomeyces, 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 به‌دست آوردن ریشه‌های تراریخته به‌وسیله *Agrobacterium rhizogene*، پاتوژن خاکزی که به‌واسطه انتقال پلاسمید Ri[5]، باعث تراریختگی ریشه‌ها و ایجاد نظام تولید ریشه‌های مویین 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[1] روی پلاسمید Ri باکتری است، که بیان این سه جایگاه ژنی در گیاهان تراریخته سندرم ریشه مویی را به‌وجود می‌آورد (۳٤). همچنین چندین مطالعه نشان داده است که ریشه‌زایی قلمه‌های تلقیح شده با باکتری می‌تواند با کاربرد خارجی IBA شتاب بیشتری پیدا کند (۳؛ ١٤).

استفاده از پایه‌های رویشی جهت احداث باغ‌های متراکم برای تولید محصول یکنواخت‌تر ضروری به‌نظر 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 (٢٤؛ ۱) و باید مسائل و مشکلات تکثیر و ازدیاد آن حل شود (۳۷).

ارقام پیوندی روی پایه MM_{106} استقرار خوبی دارند، پاجوش نمی‌دهند و نیمه پا کوتاه (۷۵-٦۰ درصد اندازه درختان روی پایه‌های بذری سیب) و بسیار پر محصول هستند (۲۳). EM_9 نیز به‌عنوان پایه رویشی سیب اغلب برای به‌دست آوردن درختان پاکوتاه در جهان استفاده می‌شود. درختان پیوند شده روی EM_9 از ۲/۷ متر تجاوز نمی‌کنند و ۲۰ تا ٤۰ درصد اندازه درختان پیوند شده روی پایه‌های بذری هستند. با این حال EM_9 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 رایزوژنز نژاد ۱۵۸۳٤ و هورمون IBA بر القای ریشه‌های نابجا و بهبود ریشه‌زایی در قلمه‌های چوب سخت مانند پایه‌های رویشی سیب EM_9 و MM_{106} بود.

1- Root loci

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: مواد گیاهی استفاده شده در این تحقیق از شاخه‌های یک ساله و یکنواخت دو پایه مادری سیب (EM_9 و MM_{106}) 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 ٤ 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. آگروباکتریوم به‌عنوان عامل اصلی در دو سطح (کاربرد آگروباکتریوم و عدم کاربرد آن) و سطوح مختلف IBA (۳۰۰۰-۲۰۰۰-۱۰۰۰-۰ پی‌پی‌ام) و پایه (EM_9 و MM_{106}) 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. آگروباکتریوم رایزوژنز نژاد ۱۵۸۳٤ از مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی جهاد دانشگاهی مشهد تهیه شد و در محیط کشت LB کشت، و بعد از حدود ٤۸ 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 (۳۰۰۰-۲۰۰۰-۱۰۰۰-۰ 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 آگروباکتریوم 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

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 ٤ 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 ٢٤ ساعت آبیاری نشدند و پس از آن آبیاری به‌صورت روزانه انجام گرفت.

داده‌برداری و تجزیه و تحلیل داده‌ها: پس از ۹۰ روز قلمه‌ها به‌منظور 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 به‌دست 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.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	طول ریشه Root length	تعدادریشه اصلی N. of primary root	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	وزن تر ریشه Fresh weight of root	وزن خشک ریشه Dry weight of root	درصد ریشه‌زایی Rooting	درصد کالوس‌زایی Callusing
اگروباکتریوم *Agrobacterium (a)*	1	125.76**	50.33**	135.83**	0.1774**	0.0048**	9956.44**	62.40^{ns}
خطای عامل اصلی Error Main factor *(b)*	4	0.24	0.09	4.05	0.0021	0.00001	0.25	105.12
پایه Rootstock *(c)*	1	6.64**	0.31^{ns}	38.21**	0.0225**	0.0002*	104.99**	549.92*
اسید ایندول بوتیریک IBA	3	2.03**	0.71**	3.06**	0.0062**	0.00007^{ns}	138.63**	18.67^{ns}
اگروباکتریوم×پایه a×b	1	6.64**	0.31^{ns}	38.21**	0.0225**	0.0002*	104.99**	12.03^{ns}
اگروباکتریوم× IBA a×c	3	2.03**	0.71**	3.06**	0.0062**	0.00007^{ns}	138.63**	324.51*
پایه×IBA b×c	3	0.42^{ns}	0.91**	2.68**	0.0006^{ns}	0.00002^{ns}	30.36**	24.64^{ns}
اگروباکتریوم×پایه×IBA a×b×c	3	0.42^{ns}	0.91**	2.68**	0.0006^{ns}	0.00002^{ns}	30.36**	51.94^{ns}
خطای عوامل فرعی Error Subsidiary factors	28	0.20	0.09	0.58	0.0005	0.00004	1.11	87.30

ns، * و ** به‌ترتیب نشانگر عدم اختلاف معنی‌دار و معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

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 آگرباکتریوم 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 leves	تیمار treatment
78.32^{b}	28.81^{a}	0.0201^{a}	0.1216^{a}	3.36^{a}	2.04	3.23^{a}	A_1	آگروباکتریوم
80.60^{a}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	0^{b}	A_0	A.
79.15^{a}	11.20^{c}	0.0103^{a}	0.0457^{b}	1.79^{ab}	1.20^{a}	1.45^{b}	0	IBA
80.50^{a}	12.26^{c}	0.0101^{a}	0.0644^{b}	1.41^{b}	1.08^{a}	1.47^{b}	1000	(پی‌پی‌ام)
80.36^{a}	15.43^{b}	0.0068^{a}	0.0415^{b}	1.18^{b}	0.66^{b}	1.31^{b}	2000	
77.82^{a}	18.74^{a}	0.0129^{a}	0.0914^{a}	2.34^{a}	1.15^{a}	2.22^{a}	3000	(ppm)
82.84^{a}	15.89^{a}	00.76^{b}	0.0391^{b}	0.79^{b}	0.94^{a}	1.24^{b}	EM_9	پایه
76.08^{b}	12.93^{b}	0.0124^{a}	0.0824^{a}	2.57^{a}	1.10^{a}	1.99^{a}	MM_{106}	Rootstock

A_1 و A_0 به‌ترتیب 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_1 and A_0 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).

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.

سطوح آگروباکتریوم Level A.	پایه Rootstock	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	وزن تر (گرم) Fresh weight (gr)	وزن خشک (گرم) Dry weight (gr)	درصد ریشه‌زایی Rooting
A_1	EM_9	2.49^{b}	1.58^{a}	0.0782^{b}	0.0153^{b}	31.77^{a}
	MM_{106}	3.98^{a}	5.51^{a}	0.1649^{a}	0.0248^{a}	25.85^{b}
A_0	EM_9	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}
	MM_{106}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}

A_1 و A_0 به‌ترتیب 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_1 and A_0 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 ٤- مقایسه اثر متقابل تیمارآگروباکتریوم × سطوح مختلف IBA بر میانگین صفت‌های مورد مطالعه.

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

سطوح آگروباکتریوم Level A.	غلظت IBA (پی‌پی‌ام) IBA Concentrations (ppm)	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	تعداد ریشه اصلی N. of primary root	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	وزن تر (گرم) Fresh weight (gr)	درصد ریشه‌زایی Rooting	درصد کالوس‌زایی Callusing
A_1	0	2.91^{b}	2.40^{a}	3.58^{ab}	0.0914^{bc}	24.40^{d}	71.88^{c}
	1000	2.94^{b}	2.16^{a}	2.58^{b}	0.1289^{b}	24.52^{c}	77^{abc}
	2000	2.63^{b}	1.33^{b}	2.36^{b}	0.0831^{c}	30.86^{b}	82.51^{abc}
	3000	4.45^{b}	2.30^{a}	4.68^{a}	0.1829^{a}	37.47^{a}	81.89^{abc}
A_0	0	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	86.42^{a}
	1000	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	84.01^{ab}
	2000	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	78.21^{abc}
	3000	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{c}	0.00^{d}	0.00^{e}	73.75^{bc}

A_1 و A_0 به‌ترتیب 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_1 and A_0 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 Rooting	تعداد ریشه فرعی N. of secondary root	تعداد ریشه اصلی N. of primary root	غلظت IBA (پی‌پی‌ام) IBA Concentrations (ppm)	پایه Rootstocks
11.89 ^{ef}	0.33 ^{c}	0.90 ^{bcd}	0	EM_9
12.51 ^{de}	0.41 ^{c}	1.33 ^{abc}	1000	
16.61 $_{b}$	0.86 ^{c}	0.70 ^{d}	2000	
22.53 ^{a}	1.54 ^{bc}	0.83 ^{cd}	3000	
10.51 ^{e}	25.3 ^{a}	1.50 ^{a}	0	MM_{106}
12.01 ^{ef}	2.41 ^{ab}	0.83 ^{cd}	1000	
14.25 ^{cd}	1.50 ^{bc}	0.62 ^{d}	2000	
14.94 ^{bc}	3.13 ^{a}	1.46 ^{ab}	3000	

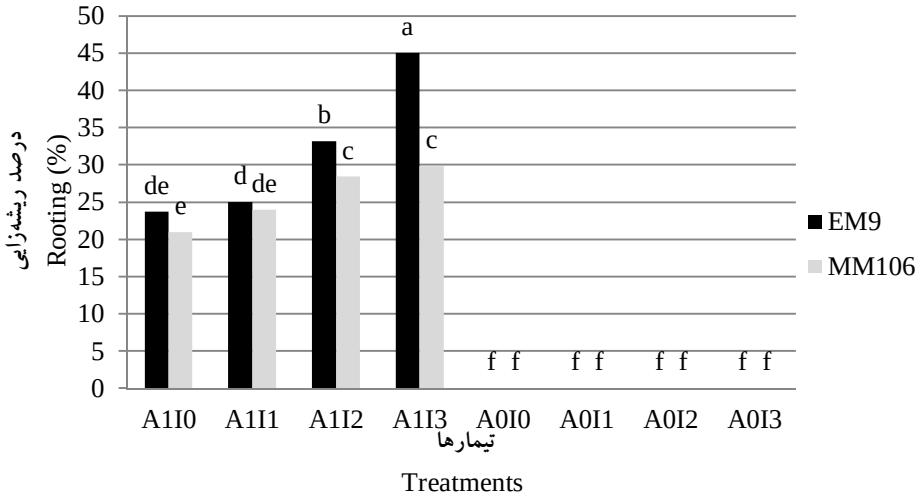
میانگین‌های دارای حروف مشابه در داخل هر ستون با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۱ درصد دارای اختلاف معنی‌دار نیستند.

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 رایزوژنز بر درصد ریشه‌زایی (۲۸/۸۱ درصد) در مقایسه با عدم کاربرد آگروباکتریوم رایزوژنز به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P\leq$۰/۰۱). 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 (۲۰۰٤) تشکیل ریشه را در قلمه‌های جمع‌آوری شده از درختان مسن *Taxus mairei*، به‌وسیله IBA و سه نژاد از *A. rhizogenes (*R1600, R1601, R15834) القا کردند و نشان دادند تعداد ریشه در گیاهان تیمار شده توسط آگروباکتریوم رایزوژنز، ۲ تا ۳ برابر بیشتر از گیاهان شاهد و ۱/۵ تا ۱/۱۱ برابر بیشتر از گیاهان تیمار شده با IBA بوده است (٦). 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 (۱۳۸٦) 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 اگروباگتریوم گزارش کردند (۲). مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۱۸/۷٤ درصد) و کمترین (۱۱/۲۰ درصد) ریشه‌زایی به‌ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام و شاهد به‌دست

آمدند (P≤۰/۰۱). 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 (١٤). ارسیسلای و همکاران (۲۰۰٤) 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_9 (۱۵/۸۹درصد) بیشتر از پایه MM_{106} (۱۲/۹۳درصد) بود (P≤۰/۰۱). 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_9 به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد (P≤۰/۰۱). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ٤) نشان می‌دهد که بیشترین میانگین درصد ریشه‌زایی (۳۷/٤۷ 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≤۰/۰۱). 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 (١٦). محققان دیگر، ارکان و همکاران (۱۹۹۹) نیز بیان کردند که اثر اکسینی مشاهده شده توسط آگروباکتریوم رایزوژنز ناشی از افزایش حساسیت اکسین سلولی و نه افزایش تولید اکسین است (۱۱). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف و سطوح هورمون IBA (جدول ٥) نشان می‌دهد که بیشترین ریشه‌زایی (۲۲/۵۳ درصد) در پایه EM_9 از تیمار ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام و کمترین ریشه‌زایی (۱۰/٥۱درصد) در پایه MM_{106} از تیمار شاهد به‌دست آمد (P≤۰/۰۱). 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 منحصرا تحت تأثیر تیمارهای خارجی همراه با استعداد ارقام و شرایط محیطی است. اکسین از تیمارهای خارجی است که تأثیر ویژه‌ای دارد (١٦). شکل ۱ نشان می‌دهد که بیشترین درصد ریشه‌زایی (٤٥/۰٦ درصد) در پایه EM_9 با کاربرد تیمار آگروباکتریوم به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام IBA به‌دست آمد در حالی

که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به‌دست نیامد (P≤۰/۰۱). ارسیسلای و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی که روی تشکیل ریشه نابجای کیوی فروت انجام دادند، بهترین درصد ریشه‌زایی را در تیمار ترکیبی آگروباکتریوم روبی نژاد A18 به اضافه هورمون ٤۰۰۰ 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؛ ٤؛ 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_1 و A_0 به‌ترتیب 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.

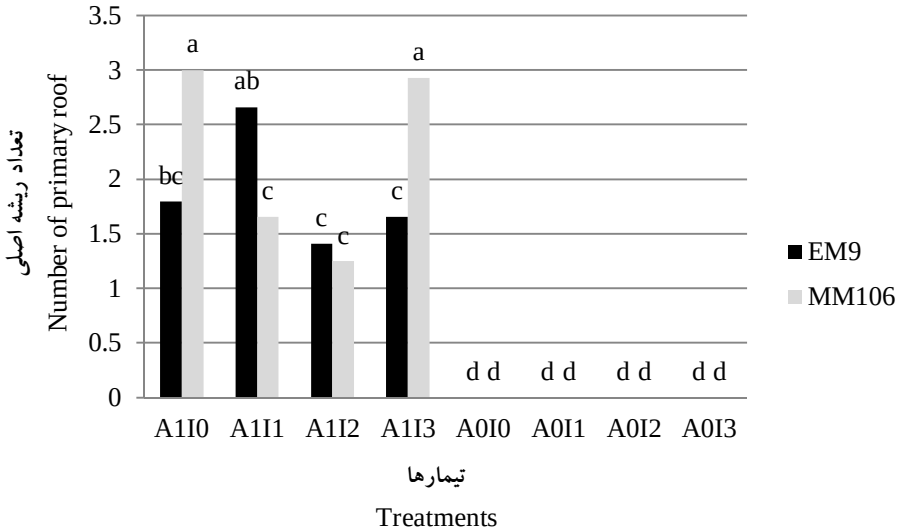
A_1 and A_0 respectively with and without application of *Agrobacterium* and I_0,I_1, I_2 and I_3 Indicate the control levels, 1000, 2000 and 3000 ppm of IBA are.

طول ریشه: اثر تیمار اگروباکتریوم بر صفت طول ریشه (جدول ۲) نشان داد که میانگین طول ریشه (۳/۲۳ سانتی‌متر) در کاربرد آگروباکتریوم رایزوژنز نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P≤۰/۰۱). بیشترین و کمترین میانگین طول ریشه به‌ترتیب 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 ($P\leq۰/۰۱$). میانگین طول ریشه در پایه MM_{106} با (۱/۹۹ سانتی‌متر) طول، بیشتر از پایه M_9 (۱/۲٤ سانتی‌متر) بود ($P\leq۰/۰۱$). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم رایزوژنز و پایه‌های مختلف در جدول ۳ آمده است. نتایج نشان داد که بیشترین میانگین طول ریشه در کاربرد آگروباکتریوم رایزوژنز در پایه MM_{106}، (۳/۹۸ سانتی‌متر) به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ($P\leq۰/۰۱$). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم رایزوژنز و سطوح هورمون IBA در جدول ٤ آمده است. نتایج نشان داد که بیشتربن طول ریشه (٤/٤٥ سانتی‌متر) از تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز 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 ($P\leq۰/۰۱$). اسیتکن 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_{106} 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 رایزوژنز (۲/۰٤) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P\leq۰/۰۱$) مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۱/۲۰) و کمترین (۰/٦٦) میانگین تعداد ریشه اصلی به‌ترتیب در تیمار شاهد و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام به‌دست آمدند که غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام با بقیه غلظت‌ها تفاوت معنی‌داری داشت ($P\leq۰/۰۱$). مقایسه میانگین اثر پایه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری بین پایه‌ها نشان نداد (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ٤) نشان می‌دهد بیشترین میانگین تعداد ریشه اصلی (۲/٤۰) از تیمار آگروباکتریوم به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ($P\leq۰/۰۱$). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف در سطوح هورمون IBA (جدول ۵) نشان می‌دهد که بیشترین (۱/۵) و کمترین (۰/٦۲) میانگین تعداد ریشه اصلی در پایه MM_{106} به‌ترتیب از تیمار شاهد و غلظت ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به‌دست آمد ($P\leq۰/۰۱$). 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_{106} در تیمار آگروباکتریوم به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به‌دست نیامد ($P\leq$۰/۰۱). با بررسی همه جداول و مقایسه میانگین‌ها مشاهده می‌شود که بیشترین تعداد ریشه اصلی از تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز ۱۵۸۳٤ در پایه MM_{106} 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.

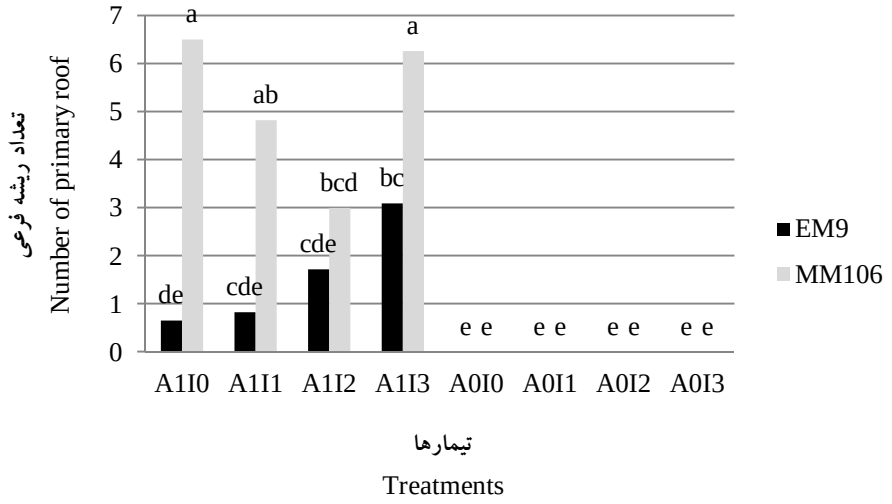
A_1 و A_0 به‌ترتیب کاربرد و عدم کاربرد آگروباکتریوم و I_0، I_1، I_2 و I_3 نشان‌دهنده سطوح شاهد، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام از IBA می‌باشند.

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.

تعداد ریشه فرعی: مقایسه میانگین اثر تیمارها بر صفت تعداد ریشه فرعی (جدول ۲) نشان می‌دهد که، میانگین تعداد ریشه فرعی در کاربرد آگروباکتریوم رایزوژنز (۳/۳٦) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود ($P\leq$۰/۰۱). این نتایج با یافته‌های ارکان و

همکاران (۱۹۹۹) که ثابت کردند بیشترین تعداد ریشه جمعیت‌های روناس[1] بعد از تلقیح توسط آگروباکتریوم رایزوژنز نژادهای R1000, 2628, 15834 و 9365 تولید شدند، مطابقت دارد (۱۱). همچنین سیسر و بر (۱۹۸۷) مشاهده کردند که بذرهای سیب وقتی که با نژادهای باکتریایی تیمار شدند ریشه‌های جانبی بهتری می‌دهند (۵). مقایسه میانگین اثر تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۲/۳٤) و کمترین (۱/۱۸) میانگین تعداد ریشه فرعی به‌ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به‌دست آمدند ($P\leq$۰/۰۱) میانگین تعداد ریشه فرعی در پایه MM_{106} (۲/۵۷) بیشتر از پایه EM_9 (۰/۷۹) بود ($P\leq$۰/۰۱). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و پایه‌های مختلف (جدول ۳) نشان داد که بیشترین میانگین تعداد ریشه فرعی در کاربرد آگروباکتریوم در پایه MM_{106} (۵/۱۵) بدست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد ($P\leq$۰/۰۱). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ٤) نشان می‌دهد بیشترین تعداد ریشه فرعی (٤/٦٨) از تیمار آگروباکتریوم به اضافه ۳۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون بدست آمد و با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها مشاهده نگردید ($P\leq$۰/۰۱). اسیتکن و همکاران (۲۰۰۳)، نیز در بررسی که روی تشکیل ریشه نابجا در قلمه‌های آلبالو انجام دادند، بیشترین تعداد ریشه را در تیمار ترکیبی *Agrobacterium rubi* A16 به اضافه هورمون IBA و کمترین تعداد ریشه را در تیمار کنترل گزارش کردند (۱۰). اورهان و همکاران (۲۰۰٦) نیز در آزمایشی روی بذرهای بادام بیشترین تعداد ریشه‌های جانبی را از تیمارهای ترکیبی باکتریایی گزارش کردند (۲۸). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه‌های مختلف در سطوح هورمون IBA (جدول ۵) نشان می‌دهد که بیشترین (۳/۲۵) و کمترین (۰/۳۳) میانگین تعداد ریشه فرعی به‌ترتیب در پایه MM_{106} و EM_9 از تیمار شاهد هورمون به‌دست آمدند ($P\leq$۰/۰۱). شکل ۳ نشان می‌دهد که بیشترین میانگین تعداد ریشه فرعی (٦/۵) در پایه MM_{106} در تیمار آگروباکتریوم به‌دست آمده در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در پایه‌ها به‌دست نیامد ($P\leq$۰/۰۱).

1- *Rubia tinctorum*



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_1 و A_0 به‌ترتیب 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.

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 خشگ در کاربرد آگروباکتریوم رایزوژنز به‌ترتیب (۰/۱۲۱٦ گرم و ۰/۰۲۰۱ گرم) نسبت به زمانی که آگروباکتریوم استفاده نشد به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (P≤۰/۰۱). مقایسه میانگین اثر ساده تیمار IBA نشان داد که بیشترین (۰/۰۹۱٤ گرم) و کمترین (۰/۰٤۱۵ گرم) میانگین وزن تر به‌ترتیب در تیمار ۳۰۰۰ و ۲۰۰۰ پی‌پی‌ام هورمون به‌دست آمدند (P≤۰/۰۱). میانگین وزن تر در پایه MM_{106} (۰/۰۸۲٤ گرم) بیشتر از پایه EM_9 (۰/۰۳۹۱ گرم) بود (P≤۰/۰۱). میانگین وزن خشک نیز در پایه MM_{106} (۰/۰۱۲٤ گرم) بیشتر از پایه EM_9 (۰/۰۰۷٦ 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_{106} (۰/۱٦٤۹ گرم) به‌دست آمد در حالی که با عدم کاربرد آگروباکتریوم هیچ ریشه‌ای در هر دو پایه مشاهده نشد (P≤۰/۰۱). بیشترین

میانگین وزن خشک نیز (۰/۰۲٤۸ گرم) در کاربرد آگروباکتریوم در همین پایه بدست آمد ($P\leq0/05$). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و سطوح هورمون IBA (جدول ٤) 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 ($P\leq0/01$). اورهان و همکاران (۲۰۰٦) 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 رایزوژنز نژاد ۱۵۸۳٤ روی کالوس‌زایی قلمه‌ها مؤثر واقع نشد. مقایسه میانگین اثر آگروباکتریوم رایزوژنز 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_9 (۸۲/۸٤ درصد) بیشتر از پایه MM_{106} (۷٦/۰۸ درصد) بود ($P\leq۰/۰۱$). مقایسه میانگین اثر متقابل آگروباکتریوم و هورمون IBA (جدول ٤) نشان می‌دهد که با افزایش غلظت هورمون از میزان کالوس‌زایی کاسته می‌شود و بیشترین میانگین درصد کالوس‌زایی (۸٦/٤۲ درصد) در تیمار شاهد هورمونی و همچنین عدم کاربرد آگروباکتریوم و کمترین میزان کالوس‌زایی (۷۱/۸۸ درصد) در تیمار آگروباکتریوم به تنهایی مشاهده می‌شود ($P\leq۰/۰۵$). پیرلاک و همکاران (۲۰۰۹) در بررسی که روی ریشه‌زایی EM_9 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).

نتیجه‌گیری کلی

در این آزمایش نشان داده شد که تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز تاثیر بسزایی روی ریشه‌زایی دارد به طوری‌که 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 این‌گونه قلمه‌های سخت ریشه‌زا کافی نیست، بلکه برای دست‌یابی به ریشه‌زایی مطلوب باید تیمارهای هورمونی همراه با تیمارهای دیگر مثل تیمار آگروباکتریوم رایزوژنز به‌کار 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 به‌دست 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 Hortic 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., Cangi, 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 Hortic 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 Hortic 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_{106} 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_9 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 Hortic. 100: 75-82.
36. Tworkoski, T. and Takeda, F. 2007. Rooting response of shoot cuttings from three peach growth habits. Sci. Hortic. 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.