Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

Journal of Plant Production Research

Print ISSN: 2322-2050
Online ISSN: 2322-2778

(OPEN ACCESS)

Effects of different culture media and growth regulators on micropropagation of blueberry (*Vaccinium corymbosom* L. cv. Bluegold)

Mehdi Bakhshipour[1], Hedayat Zakizadeh[*2], Jamalali Olfati[3], Davood Bakhshi[4]

1. Ph.D. Student of Horticultural Sciences and Engineering, Dept. of Horticultural Sciences, University Campus 2, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: m.bakhshipour.e@gmail.com
2. Corresponding Author, Assistant Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: zakizadeh@guilan.ac.ir; zakizadeh55@yahoo.com
3. Professor, Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: jamalaliolfati@gmail.com
4. Associate Prof., Dept. of Horticultural Sciences, Faculty of Agricultural Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran. E-mail: bakhshi-b@guilan.ac.ir

Article Info

Article type:
Full Length Research Paper

Article history:
Received: 05.20.2024
Revised: 05.26.2024
Accepted: 08.04.2024

Keywords:
Culture medium,
Proliferation,
Root induction,
Vaccinium,
Zeatin

ABSTRACT

Background and Objectives: The blueberry plant belongs to the *Ericaceae* family and the *Vaccinium* genus, which is native to North America. In recent years, the demand for blueberry consumption has increased significantly due to the presence of valuable antioxidant compounds such as flavonoid, anthocyanin and phenolic acids and the effect on human health. The use of new methods of plant propagation such as tissue culture can be effective in the mass production of blueberry cultivars, garden construction and finally blueberry fruit production. Although blueberry cultivation has not been carried out on a large scale in Iran, there are environmental requirements for its growth and commercial production in some regions of Iran.

Materials and Methods: In this research, lateral shoot explants with two nodes of Bluegold cultivar of blueberry were prepared and after disinfection in Murashige and Skoog (MS), Woody Plant Medium (WPM) and Anderson (AN) basic culture media containing Zeatin growth regulators. TDZ, 2iP and BA were cultured at three levels (0.5, 1 and 1.5 mg/L) for proliferation. After two months, new branches were grown and fertilized, and the indices of shoot length, number of shoots, number of leaves, and chlorophyll a and chlorophyll b were measured in each explant. Rooting potential on the shoots produced in the mentioned culture medium along with the growth regulators of IBA, NAA and IAA at three levels (1, 2 and 3 mg/L) based on the complete randomly design and in three replicate, was performed. After 8 weeks, the characteristics of rooting percentage, root length and number of roots were evaluated.

Results: In the processing stage after 10 weeks, the desired traits were measured, the longest shoot length (4.93 cm) and the highest number of leaves (18.75) in the treatment of WPM culture medium with Zeatin hormone, the highest number of shoots (8.22) in the application of Zeatin

at the rate of 1.5 mg/l, the highest amount of chlorophyll a (1.71 mg/g) in MS culture medium and chlorophyll b (0.36 mg/g) It was observed in the treatment of WPM culture medium with Zeatin. In the rooting stage after 8 weeks, the desired traits were measured, the highest number of roots (3.64) and the longest root length (8.22 cm) with the application of IBA in the amount of 2 mg/l in the environment. WPM cultivation and the highest percentage of rooting (67.11) was observed with the application of IBA at the rate of 2 mg/l.

Conclusion: In general, the results of this research showed that in the processing test, the use of 1.5 mg/L of zeatin in the AN culture medium has effective effects on the bluegold blueberry proliferation. In the rooting test, the use of 2 mg/L IBA in WPM culture medium with half the concentration of macro substances showed better results than other growth regulators and other culture mediums. Therefore, the above treatments can be suggested for processing and rooting of Bluegold blueberry.

Cite this article: Bakhshipour, Mehdi, Zakizadeh, Hedayat, Olfati, Jamalali, Bakhshi, Davood. 2026. Effects of different culture media and growth regulators on micropropagation of blueberry (*Vaccinium corymbosom* L. cv. Bluegold). *Journal of Plant Production Research*, 33 (1), 63-79.

© The Author(s).
DOI: 10.22069/jopp.2024.22439.3145
Publisher: Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی

شاپا چاپی: ۲۳۲۲-۲۰۵۰
شاپا آنلاین: ۲۳۲۲-۲۷۷۸

اثر انواع محیط‌کشت پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی بلوبری رقم بلوگلد (*Vaccinium corymbosom* L. cv. Bluegold)

مهدی بخشی‌پور[۱]، هدایت زکی‌زاده*[۲]، جمالعلی الفتی[۳]، داود بخشی[٤]

۱. دانشجوی دکتری علوم و مهندسی باغبانی، گروه علوم باغبانی، پردیس دانشگاهی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: m.bakhshipour.e@gmail.com

۲. نویسنده مسئول، استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: zakizadeh@guilan.ac.ir؛ zakizadeh55@yahoo.com

۳. استاد گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: jamalaliolfati@gmail.com

٤. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران. رایانامه: bakhshi-b@guilan.ac.ir

اطلاعات مقاله

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی- پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱٤۰۳/۰۲/۳۱
تاریخ ویرایش: ۱٤۰۳/۰۳/۰٦
تاریخ پذیرش: ۱٤۰۳/۰۵/۱٤

واژه‌های کلیدی:
پرآوری،
ریشه‌زائی،
زآتین،
محیط‌کشت،
واکسینیوم

چکیده

سابقه و هدف: گیاه بلوبری متعلق به تیره *Ericaceae* و جنس *Vaccinium* بوده که بومی آمریکای شمالی است. در سال‌های اخیر تقاضا برای مصرف بلوبری به دلیل وجود ترکیبات ارزشمند آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئید، آنتوسیانین و اسیدهای فنولیکی و تأثیر در سلامتی انسان، افزایش چشم‌گیری داشته است. هدف از انجام این پژوهش استفاده از روش‌های نوین تکثیر گیاهان مانند کشت‌درون شیشه‌ای، تهیه روش بهینه ریز ازدیادی و تولید انبوه نهال ارقام بلوبری می‌باشد. با توجه به این‌که نیازهای محیطی برای رشد و تولید تجاری این میوه در برخی از مناطق ایران وجود دارد، تولید نهال برای احداث باغ و درنهایت تولید میوه بلوبری ضروری می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این پژوهش ریز نمونه‌ها از شاخه‌های جانبی با حداقل دو گره از بلوبری رقم بلوگلد تهیه شد و پس از گندزدایی در محیط‌کشت‌های پایه Murashige and Skoog (MS)، Woody Plant Medium (WPM) و Anderson (AN) حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد Zeatin، TDZ، 2iP و BA در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) جهت پرآوری کشت شدند. پس از دو ماه، شاخه‌های جدید رشد یافته و پرآوری صورت گرفت و شاخص‌های طول شاخساره، تعداد شاخساره، تعداد برگ و کلروفیل a و کلروفیل b در هر ریزنمونه اندازه‌گیری شد. پتانسیل ریشه‌زایی روی شاخساره‌های تولید شده در محیط‌کشت‌های ذکرشده به همراه تنظیم‌کننده‌های رشد IBA، NAA و IAA در چهار سطح (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. پس از ۸ هفته صفات درصد ریشه‌زایی، طول ریشه و تعداد ریشه مورد ارزیابی قرار گرفتند.

یافته‌ها: در مرحله پرآوری بعد از ۱۰ هفته صفات موردنظر اندازه‌گیری شدند که بلندترین طول شاخساره (٤/۹۳ سانتی‌متر) در تیمار شاهد محیط کشت AN، بیش‌ترین تعداد شاخساره (۸/۲۲) در کاربرد Zeatin به میزان ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر، بیش‌ترین تعداد برگ (۱۸/۷۵) در تیمار شاهد محیط کشت AN، بالاترین مقدار کلروفیل a (۱/۷۱ میلی‌گرم بر گرم) در محیط کشت WPM و کلروفیل b (۰/۳٦ میلی‌گرم بر گرم) در تیمار شاهد محیط کشت AN مشاهده شد. در مرحله ریشه‌زایی بعد از ۸ هفته صفات موردنظر اندازه‌گیری شدند که بیش‌ترین تعداد ریشه (۳/٦٤) در محیط کشت AN، بلندترین طول ریشه (۸/۲۲ سانتی‌متر) با کاربرد IBA به مقدار ۲ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت WPM و بالاترین درصد ریشه‌زایی (٦۷/۱۱) با کاربرد IBA به میزان ۲ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: به‌طورکلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنظیم‌کننده رشد Zeatin با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر در محیط‌کشت AN بهترین نتیجه را در پرآوری شاخساره بلوبری رقم بلوگلد دارد. در آزمایش ریشه‌زایی نیز تنظیم‌کننده رشد IBA به مقدار ۲ میلی‌گرم در لیتر در محیط‌کشت WPM اثر بهتری بر پارامترهای ریشه‌زایی از خود نشان داد؛ بنابراین تیمارهای فوق را می‌توان جهت پرآوری و ریشه‌زایی بلوبری رقم بلوگلد پیشنهاد کرد.

استناد: بخشی‌پور، مهدی، زکی‌زاده، هدایت، الفتی، جمالعلی، بخشی، داود (۱۴۰۵). اثر انواع محیط‌کشت پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی بلوبری رقم بلوگلد (*Vaccinium corymbosom* L. cv. Bluegold). *نشریه پژوهش‌های تولید گیاهی*، ۳۳ (۱)، ۷۹-۶۳.
DOI: 10.22069/jopp.2024.22439.3145

ناشر: دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان
© نویسندگان.

مقدمه

گیاه بلوبری بانام علمی *Vaccinium corymbosum* L.، متعلق به خانواده *Ericaceae*، جنس *Vaccinium* و زیر جنس Cyanococcus است (۱). در کشورهای ایالات‌متحده آمریکا و کانادا این گیاه در مساحتی معادل ٤٨/٣ تا ٧٤ هزار هکتار کشت می‌شود و تولید جهانی میوه آن بین ٢١٤ تا ٣٣١ هزار تن می‌باشد. میوه بلوبری و سایر گونه‌های بلوبری‌ها هم به‌صورت مصرف تازه‌خوری و هم در تهیه مربا، ژله، شربت، دسرها، آب‌نبات، بستنی و غیره و هم به‌صورت محصولات فرآوری شده مانند کمپوت‌ها و کنسانتره‌ها مورداستفاده قرار می‌گیرد (۲). بلوبری‌های پابلند مانند *V. corymbosum* میوه درشت، شیرین و فراوان تولید و در مناطق مرطوب یا جنگل‌های مرطوب بهتر رشد می‌کنند. برای شکستن خواب آن‌ها بیش از ۷۰۰ ساعت سرمای کم‌تر از ۷ درجه سانتی‌گراد لازم است. در شرایط طبیعی گیاهان خودرو تا ارتفاع ٤/٥ متر رشد می‌کنند. در باغ‌ها ارتفاع بلوبری‌های پابلند به ۱/۷۰ تا ۳/۷۰ متر می‌رسد (۳). بلوبری‌ها خودگرده‌افشان هستند اما در صورت دگرگرده‌افشانی، علاوه بر بهبود عملکرد، میوه‌های با تعداد بذر کم‌تر و اندازه درشت‌تر تولید می‌کنند (٤). در سال‌های اخیر تولید و مصرف میوه بلوبری در دنیا به دلیل خواص درمانی و ارزش تغذیه‌ای بالا، در حال افزایش است (٥). امروزه، برای تکثیر سریع و انبوه رقم‌های مرغوب اصلاح‌شده، از کشت درون‌شیشه‌ای استفاده می‌شود. بلوبری (*Vaccinium corymbosum* L.) در اصل یک گیاه جنگلی است. در حال حاضر این گیاه نیاز به تکثیر انبوه با فناوری‌های جدید مانند ریز ازدیادی دارد. درصد زیادی از گیاهان تکثیرشده نه‌تنها در مرحله سازگاری با شرایط غیر استریل، بلکه در مرحله تکمیل رشد آسیب‌دیده یا از بین می‌روند. درواقع تکثیر آزمایشگاهی موفق از چنین گیاهانی با توانایی آن‌ها در تولید شاخه‌های جدید که می‌توانند با محیط جدید سازگار شوند، تعیین می‌شود (٦). استفاده از روش کشت بافت برای تکثیر گونه‌های مختلف جنس *Vaccinium* برای تولید انبوه گیاهان، تولید گیاهان باکیفیت بالا، بهبود ژرم پلاسم، حفاظت ژنتیکی و اهداف تحقیقاتی بسیار مؤثر واقع‌شده است. در پژوهشی، تکثیر گیاه *Vaccinium floribundum* Kunth از طریق کشت جوانه‌های جانبی در محیط کشت WPM موردمطالعه قرار گرفت. نتایج نشان داد که بیش‌ترین تعداد شاخه‌ها در محیط کشت WPM غنی‌شده با ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد 2ip و NAA به دست آمد و سازگاری گیاهان ریشه‌دار شده در بستر حاوی پیت و ورمی‌کولیت انجام شد (۷). پژوهش‌گران تأثیر شرایط مختلف کشت ازجمله نوسانات pH، مقادیر مختلف ساکارز و سه نوع سایتوکنین را بر تکثیر بلوبری رقم Coville موردمطالعه قراردادند. بهترین نتایج برای این رقم، در محیط‌کشت دارای ۲۵ گرم در لیتر ساکارز، pH برابر با ٦ و ترانس زآتین ریبوساید به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر به دست آمد (۸). در پژوهشی دیگر ریز ازدیادی ارقام مختلف بلوبری پابلند شامل Bluecrop، Bluegold، Bluejay، Spartan و Patriot برای انتخاب دستورالعمل مناسب جهت تکثیر صورت گرفت. محیط‌کشت پایه WPM حاوی ۳ میلی‌گرم در لیتر زآتین و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2iP و pH برابر با ٤/٢ بود. رقم Bluegold بیش‌ترین میزان شاخه‌زایی در هر ریز نمونه را به مقدار ٤/٤ شاخه نشان داد و بیش‌ترین طول شاخساره به میزان ۳/۹ سانتی‌متر در رقم Bluegold گزارش شد. توانایی ریشه‌زایی در محیط پایه WPM با نصف غلظت نمک‌ها، حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA و pH=٤/٢ بررسی شد. بالاترین درصد ریشه‌زایی (۳۳/۳ درصد) و بیش‌ترین میانگین تعداد ریشه (۳/۹) در ارقام Spartan و Patriot گزارش شد. نتایج نشان

می‌دهد که پتانسیل باززایی به ژنوتیپ وابسته است (۹). در پژوهشی گزارش شد که استفاده از تیدیازورون (TDZ) در محیط‌کشت بلوبری پابلند، باعث القای رشد آهسته و سرعت تکثیر پایین می‌شود؛ بنابراین استفاده از این تنظیم‌کننده رشد را برای ریز ازدیادی این رقم بلوبری توصیه نمی‌کنند (۱۰). نتایج حاصل از پژوهشی روی ریز ازدیادی سه رقم بلوبری (Bluecrop, Chandler و Reka) در محیط‌کشت WPM غنی‌شده با تنظیم‌کننده رشد زآتین و ماده دیک گولاگ[1] نشان داد که زآتین دارای آثار قابل‌توجهی روی تکثیر و رشد این ارقام بلوبری است. از طرف دیگر، ماده دیک گولاگ آثار قابل‌ملاحظه‌ای روی رشد ارقام بلوبری ندارد، به‌طوری‌که در تیمارهایی با غلظت پایین یا عدم حضور آن، میزان رشد بیش‌تر می‌شود. این آزمایش اطلاعات کافی در رابطه با انتخاب شرایط بهینه رشد برای ریز ازدیادی درون شیشه‌ای این سه رقم بلوبری را نشان می‌دهد (۱۱). در پژوهشی دیگر جوانه‌های رأسی سه رقم بلوبری (Spartan، Bluecrop و Berkeley) انتخاب و با محلول کلرید جیوه در غلظت ۰/۱۵ درصد استریل شدند و در سه محیط کشت WPM، MS و AN حاوی ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر زآتین کشت شدند. میزان تکثیر با توجه به غلظت سایتوکنین و نوع محیط‌کشت متفاوت بود. بیش‌ترین شاخه‌زایی در رقم Berkeley با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر زآتین و محیط‌کشت WPM حاصل شد. از بین سه محیط‌کشت به‌کاررفته در این پژوهش، محیط‌کشت WPM نتایج بهتری را در شاخه‌زایی ارقام مختلف بلوبری نسبت به سایر محیط‌کشت‌ها از خود نشان داد (۱۲). در آزمایشی تأثیر کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد زآتین، 2ip و TDZ در تکثیر درون‌شیشه‌ای رقم Duke موردمطالعه قرار گرفت. بیش‌ترین میزان تکثیر جوانه‌های جانبی بلوبری در این مطالعه، در محیط‌کشت AN حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر زآتین حاصل شد. تیدیازورن به‌تنهایی و هم‌چنین در ترکیب با 2ip باعث شاخه‌زایی بیش‌تر و القای کالوس شد. بنابراین تیدیازورن در تکثیر بلوبری می‌تواند جایگزین زآتین شود (۱۳). مرحله آخر ریز ازدیادی ریشه‌دار کردن گیاهان تولیدی است (۱٤). به‌طورکلی اکسین‌ها عامل تحریک ریشه‌زایی هستند (۱۵). معمول‌ترین اکسین‌های مورداستفاده در تشکیل ریشه، نفتالین استیک‌اسید (NAA) و ایندول‌بوتریک اسید (IBA) هستند. به‌طور عمده اکسین‌ها در انگیزش ریشه از شاخساره به کار می‌روند و اثر آن‌ها با نوع و غلظت مورداستفاده در گونه‌های گیاهی متغیر است (۱٦). اکسین با غلظت بالا، از طریق فعال ساختن تقسیم یاخته‌های دایره محیطیه، ریشه‌زایی را تحریک می‌کند. از بین اکسین‌ها، IBA مؤثرترین اکسین در ریشه‌زایی بیش‌تر گیاهان می‌باشد (۱۷). در پژوهشی تکثیر ساقه و ریشه‌زایی چهار رقم از جنس واکسینیوم در سه محیط‌کشت بانمک‌های پایه MS، WPM و MS + WPM موردبررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که بهترین محیط برای ریشه‌زایی، محیط‌کشت MS است و کم‌ترین میزان ریشه‌زایی در محیط‌کشت WPM حاصل شد (۱۸).

هدف از این پژوهش، دستیابی به روش بهینه‌شده برای افزایش درون شیشه‌ای بلوبری رقم بلوگلد بود. بدین‌منظور تأثیر تیمارهای مختلف مانند انواع تنظیم‌کننده‌های رشد با غلظت‌های متفاوت و محیط‌های کشت مختلف جهت ریز ازدیادی بلوبری رقم بلوگلد در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تهیه نمونه گیاه و مواد مورد نیاز: ریز نمونه‌های موردنیاز برای پژوهش حاضر، شاخه‌های حاوی

1- Dikegulac

جوانه‌های جانبی گیاه گلدانی بلوبری رقم بلوگلد (*Vaccinium corymbosom* L. cv. Bluegold) بودند که از شرکت جوانه‌گستر سبز سمام تهیه شد. ریز نمونه‌ها به آزمایشگاه کشت بافت پژوهشکده بیوتکنولوژی جانوری منتقل شدند.

مواد شیمیایی: از ترکیبات شیمیایی مختلفی جهت انجام آزمایش‌ها استفاده شد. ترکیبات آلی و غیر آلی موردنیاز مانند نمک‌های پرمصرف و کم‌مصرف، ویتامین‌ها و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و آگار از نمایندگی شرکت دوچفا[1] (هلند) تهیه شدند و از پودر آهن آماده (Fe-EDDHA) به میزان ۹۶ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد.

محیط‌کشت‌های مورد بررسی و شرایط کشت

تهیه محیط‌کشت: در این آزمایش از سه محیط‌کشت پایه WPM، MS و AN استفاده شد. مقدار آگار استفاده‌شده در محیط کشت‌ها ۰/۷ درصد (۷ گرم در لیتر) و ساکارز ۳ درصد (۳۰ گرم در لیتر) به همراه نمک‌های معدنی بود و pH محیط‌ها با pH متر دیجیتالی و افزودن NaOH یا HCl یک نرمال روی ۰/۱ ± ۵/۱ تنظیم شد. برای استریل کردن محیط‌های کشت تهیه‌شده، از اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد در فشار یک جو به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. سپس محیط‌های کشت پایه در شیشه مرباهای شفاف (۹۰×۷۰ میلی‌متر) توزیع شدند (۱۹).

گندزدایی و استقرار ریز نمونه‌ها: گلدان‌های بلوبری به گلخانه سازگاری پژوهشکده بیوتکنولوژی منتقل شدند و به مدت سه ماه در شرایط مناسب رشدی نگهداری شدند. هر ۱۵ روز یک‌بار با کود کامل حاوی مواد ماکرو و میکرو به‌صورت اسپری برگی کوددهی و هر ۳۰ روز یک‌بار با قارچکش مانکوزب تیمار شدند (٦).

ریز نمونه‌ها از جوانه‌های جانبی تازه رشد یافته با حداقل دو گره و اندازه تقریبی یک سانتی‌متر تهیه شدند و ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در زیرآب جاری شسته شدند. عملیات ضدعفونی سطحی ریز نمونه‌ها، با الکل ۷۰ درصد به‌مدت ۲۵ تا ۳۰ ثانیه انجام گرفت، پس‌ازآن به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۵۰ درصد محلول سفیدکننده تجاری (حاوی ۵ درصد کلر فعال) قرار گرفتند سپس نمونه‌ها با آب مقطر استریل در زیر لامینار (هود استریل) به مدت ۳ تا ۵ دقیقه چند بار آبکشی شدند و برای خشک‌کردن روی کاغذ صافی قرار داده شدند. ریز نمونه‌های گندزدایی‌شده، به‌منظور استقرار در محیط‌های کشت پایه بدون تنظیم‌کننده رشد، کشت شدند (۲۰).

مرحله پرآوری: بعد از رفع آلودگی جهت استقرار و پرآوری، ریز نمونه‌ها در محیط کشت پایه اندرسون به‌همراه نیم میلی‌گرم در لیتر زآتین کشت شدند و نمونه‌ها هر ٤٥ روز یک‌بار بازکشت شدند تا تعداد ریز نمونه‌های موردنیاز برای آزمایش تولید شد. ریز نمونه‌های استقراریافته در مرحله قبل، در محیط کشت‌های پایه MS، AN و WPM حاوی غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد TDZ، 2iP، BA و Zeatin هرکدام در چهار سطح (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) جهت بررسی پرآوری، کشت شدند. هر تیمار در ۳ تکرار و هر تکرار شامل یک شیشه کشت حاوی ۵ ریز نمونه بود. ۱۰ هفته بعد از کشت، گیاهچه‌ها از شیشه‌ها خارج و صفات مرتبط با پرآوری مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این پژوهش همه کشت‌ها در اتاقک رشد با دمای ۲ ± ۲٤ و دوره نوری ١٦ ساعت روشنایی (با شدت نور ۱۵۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه) و ۸ ساعت تاریکی منتقل و نگهداری شدند (۱۲).

1- Duchefa

مرحله ریشه‌زایی: در این آزمایش شاخساره‌های تولیدشده در مرحله پرآوری مورد استفاده قرار گرفتند. آزمایش ریشه‌زایی نیز در قالب آزمون فاکتوریل با دو عامل محیط‌کشت پایه WPM، MS و AN با نصف غلظت و تنظیم‌کننده‌های رشد IBA، IAA و NAA در چهار سطح (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر) بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد (۱۹).

صفات مورد بررسی: در مرحله پرآوری پس از ۱۰ هفته بعد از کشت نمونه‌ها، طول شاخساره‌ها، تعداد شاخساره در هر نمونه، تعداد برگ، میزان کلروفیل a و b اندازه‌گیری و ثبت شد (۱۲) و در مرحله ریشه‌زایی پس از ۸ هفته طول ریشه، تعداد ریشه و درصد ریشه‌زایی مورد ارزیابی قرار گرفتند (۱۲).

سازگاری گیاهچه‌ها: گیاهچه‌های ریشه‌دار تولیدشده در شرایط درون شیشه‌ای برای انتقال به محیط خارج از شیشه‌های کشت، بااحتیاط از درون ظروف محیط کشت بیرون آورده شدند و برای جلوگیری از ایجاد آلودگی توسط قارچ‌ها و باکتری‌ها، آگار چسبیده به گیاهچه با جریان ملایم آب جاری کاملاً شسته و حذف شد. سپس گیاهچه‌ها به درون سینی کشت حاوی پیت و پرلایت اتوکلاو شده با نسبت ۳:۱ منتقل شدند. برای به حداقل رساندن آسیب‌های تنش رطوبتی تا یک هفته گیاهچه‌ها در محیطی با رطوبت بالا درون تونل‌های پلاستیکی در داخل گلخانه سازگاری که با پلاستیک ساخته‌شده بود، نگهداری شدند و به فاصله ۲ روز یک‌بار با آب‌اسیدی که اسیدیته آن ۵ تنظیم‌شده بود آبیاری انجام شد. با توجه به این‌که ریشه گیاهچه‌ها در ابتدا قدرت جذب مواد معدنی ندارند، برای سازگاری بهتر محیط‌کشت پایه اندرسون با نصف غلظت (بدون ساکارز) تهیه و هفته‌ای یک‌بار بر روی برگ گیاهچه‌ها اسپری شد.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون در هر دو مرحله پرآوری و ریشه‌زایی فاکتوریل با دو عامل محیط کشت پایه و تنظیم‌کننده‌های رشد در چهار سطح بر پایه طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار اجرا شد. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LS means انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر محیط‌کشت‌های پایه و سایتوکنین‌ها بر پرآوری بلوبری رقم بلوگلد: اثرات ساده و متقابل تیمارها در همه شاخص‌ها در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود. فقط اثر متقابل محیط کشت × تنظیم‌کننده رشد و اثر سه‌گانه تیمارها در شاخص‌های کلروفیل a و کلروفیل b در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بودند. نتایج مقایسه میانگین (جدول ۱) نشان داد در محیط کشت‌های WPM، AN و MS در شاخص‌های طول شاخساره، تعداد شاخساره و تعداد برگ کاربرد تنظیم‌کننده رشد نسبت به شاهد تغییرات در سطح یک درصد معنی‌دار بودند. در شاخص کلروفیل a و کلروفیل b کاربرد تنظیم‌کننده رشد زآتین در همه محیط کشت‌ها نسبت به شاهد در سطح یک درصد تغییرات معنی‌دار داشتند و کاربرد سایر تنظیم‌کننده‌های رشد در سطح ۵ درصد نسبت به شاهد تغییرات معنی‌دار نشان دادند. بیش‌ترین تعداد شاخه در محیط پایه WPM با کاربرد تنظیم‌کننده رشد زآتین (۷/۱۸) به دست آمد (جدول ۱).

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله پرآوری بلوبری بلوگلد.

Table 1. Intraction effect of different culture media and type of growth regulators in blueberry proliferation.

محیط کشت Culture medium	تنظیم‌کننده رشد Growth regulators	طول شاخساره (سانتی‌متر) Shoot length	تعداد شاخساره Shoot number	تعداد برگ Leaf number	کلروفیل a (mg/g) Chlorophyll a	کلروفیل b (mg/g) Chlorophyll b
MS	0	2.17 control	1.10 control	4.73 control	0.82 control	0.16 control
	Zeatin	3.97 **	3.75 **	11.41 **	1.13 **	0.23 **
	2ip	3.36 **	2.75 **	12.66 **	1.10 *	0.20 *
	TDZ	2.65 **	3.25 **	9.75 **	1.07 *	0.21 *
	BA	2.64 **	3.17 ***	11.00 **	1.03 *	0.21 *
WPM	0	2.18 control	1.25 control	5.00 control	0.88 control	0.17 control
	Zeatin	4.93 **	7.17 **	18.75 **	1.28 **	0.36 **
	2ip	4.33 **	4.00 **	10.66 **	1.07 *	0.22 *
	TDZ	3.62 **	3.91 **	11.83 **	1.05 *	0.21 *
	BA	3.21 **	3.33 **	12.33 **	1.03 *	0.20 *
AN	0	2.23 control	1.10 control	4.88 control	0.75 control	0.18 control
	Zeatin	3.53 **	4.16 **	12.00 **	1.10 **	0.27 **
	2ip	3.20 **	2.91 **	11.75 **	1.07 *	0.20 *
	TDZ	2.70 **	2.67 **	11.25 **	0.98 *	0.21 *
	BA	2.40 **	3.00 **	10.50 **	1.05 *	0.22 *

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری نسبت به کنترل هر سطح محیط کشت

**, *, ns are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance in each culture medium

همان‌طور که قبلاً مشخص‌شده از سیتوکینین برای تحریک بیش‌تر رشد شاخساره، تقسیم سلول، گسترش سلول، از بین بردن چیرگی رأسی، تشکیل کلروفیل، جذب مواد غذایی و گسترش برگ استفاده می‌شود (۲۳). یکی از عوامل موفقیت برنامه‌های کشت بافت گیاهی، افزایش تعداد شاخساره است. سایتوکنین‌ها در القای شاخساره و تقسیم سلولی نقش دارند (۲٤). سایتوکنین‌ها در تمام اندام گیاه ساخته می‌شوند و آدنوزین فسفات- ایزوپنتنیل ترانسفراز که اولین مرحله زیست تولید سایتوکنین را کاتالیز می‌کند، در کل گیاه بیان می‌شود (۲۰). ازجمله سایتوکنین‌های مصنوعی بنزیل آدنین، زآتین و تیدیازورن می‌باشند که در تعداد بی‌شماری از گیاهان کاربردهای بسیاری دارند (۲۵). سایتوکنین‌ها عامل اصلی تقسیم سلولی هستند که از طریق تأثیر بر جوانه انتهایی و غلبه بر اکسین باعث از بین رفتن چیرگی انتهایی شده و با تجمع در جوانه‌های جانبی باعث رشد جوانه‌های جانبی می‌شوند (۲۰). تأثیر مثبت زآتین بر تولید شاخساره در *V. vitis-idaea* L. دیده‌شده و از غلظت‌های آزمایش‌شده، غلظت ۰/۷۵ میلی‌گرم در لیتر بسیار مؤثر بود. در رقم Read peral بیش‌ترین میانگین تعداد شاخه به میزان ٦/۸ مشاهده شد. هم‌چنین کاربرد زآتین به میزان ۲ میلی‌گرم در لیتر، برای برخی ارقام بلوبری بسیار مطلوب بود (۲٦). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد غلظت بالای زآتین در محیط‌کشت AN برای غنی‌سازی محیط‌کشت بلوبری رقم بلوگلد در شاخص تعداد و طول شاخساره مؤثر بود. این نتایج با گزارش دیگر پژوهش‌گران مطابقت دارد که نشان دادند تنظیم‌کننده‌های رشد سایتوکنینی برای پرآوری ارقام مختلف بلوبری بسیار مهم هستند (۱۳، ۲۷، ۲۸).

طی مطالعاتی که روی ارقام بلوبری انجام گرفت اعلام گردید که محیط‌کشت‌های WPM و AN نسبت به محیط‌کشت MS عملکرد بهتری در رابطه با شاخه‌زایی دارند (۲۸).

اثر متقابل محیط‌کشت و غلظت بر پرآوری بلوبری رقم بلوگلد: نتایج مقایسه میانگین (جدول ۲) نشان داد که در هر سه محیط کشت WPM، AN و MS کاربرد غلظت‌های مختلف (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵) تنظیم‌کننده‌های رشد سایتوکنین مانند Zeatin، 2ip، TDZ و BA در تمامی پارامترهای رشد مانند طول شاخساره، تعداد شاخساره، تعداد برگ، کلروفیل a و b نسبت به شاهد تغییرات معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد نشان دادند. بیش‌ترین تعداد شاخساره (۷/۵) در محیط‌کشت WPM حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد به دست آمد (جدول ۲) اثر تنظیم‌کننده رشد زآتین بر رنگیزه‌های فتوسنتزی این ابهام را که افزایش این تنظیم‌کننده چگونه موجب هم‌افزایی و بهبود اندازه گیاهچه شده است را حل نمود. به‌طوری‌که مشاهده شد با افزایش غلظت این تنظیم‌کننده رشد به میزان یک میلی‌گرم در لیتر، رنگیزه‌های مهم فتوسنتزی هم‌چون کلروفیل a و b افزایش نشان دادند. سایتوکینین در نگهداری کلروفیل، پروتئین و سطوح RNA نقش مهمی دارد و هم‌چنین تیمار با این تنظیم‌کننده رشد منجر به افزایش DNA کلروپلاست، تکثیر کلروپلاست، تشکیل گرانا و تولید پروتئین می‌گردد، سطح رنگدانه را حفظ می‌کند، نفوذپذیری غشا را تغییر می‌دهد، بلوغ را تحت‌تأثیر قرار داده و درنتیجه پیری برگ را به تأخیر می‌اندازد (۲۹) و علاوه بر این نقش مهمی در تمایز و توسعه ساختاری کلروپلاست‌ها دارد (۳۰). همان‌طور که در این آزمایش مشاهده می‌کنیم کاربرد تمامی سایتوکنین‌ها در غلظت‌های مختلف در محیط کشت‌های متفاوت، میزان کلروفیل a و b را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که این نتایج همسو با نتایج سایر پژوهش‌گران می‌باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله پرآوری بلوبری بلوگلد.

Table 2. Intraction effect of different culture media and levels of growth regulators in blueberry proliferation.

محیط کشت Culture medium	غلظت Concentration	طول شاخساره (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	تعداد شاخساره Shoot number	تعداد برگ Leaf number	کلروفیل a (mg/g) Chlorophyll a	کلروفیل b (mg/g) Chlorophyll b
MS	0	2.22 control	1.00 control	4.83 control	0.86 control	0.17 control
	0.5	3.36 **	3.00 **	12.83 **	1.71 **	0.24 **
	1	3.50 **	4.08 **	13.41 **	1.16 **	0.24 **
	1.5	3.54 **	4.83 **	13.75 **	1.15 **	0.24 **
WPM	0	2.18 control	1.25 control	5.00 control	0.88 control	0.17 control
	0.5	4.55 **	4.25 **	15.50 **	1.19 **	0.28 **
	1	4.72 **	5.41 **	16.50 **	1.22 **	0.28 **
	1.0	4.60 **	7.50 **	16.58 **	1.23 **	0.29 **
AN	0	2.25 control	1.00 control	4.92 control	0.78 control	0.17 control
	0.5	2.99 **	3.00 **	13.58 **	1.17 **	0.26 **
	1	3.34 **	3.83 **	13.58 **	1.18 **	0.26 **
	1.5	3.27 **	4.92 **	13.42 **	1.17 **	0.24 **

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری نسبت به کنترل هر سطح محیط کشت

**, *, ns are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance in each culture medium

اثر تنظیم‌کننده رشد در غلظت بر پرآوری بلوبری رقم بلوگلد: نتایج جدول مقایسه میانگین نشان داد که کاربرد غلظت‌های مختلف (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) انواع سایتوکنین مانند Zeatin، 2ip، TDZ و BA درتمامی پارامترهای رشد مانند طول شاخساره، تعداد شاخساره، تعداد برگ، کلروفیل a و b نسبت به شاهد تغییرات معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد نشان دادند. بیش‌ترین تعداد شاخساره (۸/۵) با کاربرد ۱/۵ میلی گرم در لیتر زآتین حاصل شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در مرحله پرآوری بلوبری بلوگلد.

Table 3. Intraction effect of different type and level of growth regulators in blueberry proliferation.

تنظیم‌کننده رشد Growth regulators	غلظت Concentration	طول شاخساره (سانتی‌متر) Shoot length (cm)	تعداد شاخساره Shoot number	تعداد برگ Leaf number	کلروفیل a (mg/g) Chlorophyll a	کلروفیل b (mg/g) Chlorophyll b
0	0	2.08 control	1.00 control	4.38 control	0.77 control	0.19 control
	0.5	2.07 ns	1.00 ns	4.44 ns	0.87 ns	0.17 ns
	1	2.13 ns	1.33 ns	4.47 ns	0.76 ns	0.16 ns
	1.5	2.12 ns	1.00 ns	5.55 ns	0.86 ns	0.17 ns
Zeatin	0	2.01 control	1.00 control	4.88 control	0.87 control	0.19 control
	0.5	4.90 **	4.55 **	16.44 **	1.24 **	0.29 **
	1	4.86 **	6.33 **	17.22 **	1.29 **	0.30 **
	1.5	4.78 **	8.22 **	17.66 **	1.29 **	0.31 **
2ip	0	2.27 control	1.00 control	4.44 control	0.87 control	0.17 control
	0.5	3.96 **	3.11 **	13.66 **	1.19 **	0.26 **
	1	4.24 **	3.88 **	14.66 **	1.20 **	0.25 **
	1.5	4.05 **	4.88 **	14.00 **	1.19 **	0.24 **
TDZ	0	2.29 control	1.33 control	4.77 control	0.76 control	0.16 control
	0.5	3.01 **	2.77 **	12.66 **	1.13 **	0.25 **
	1	3.33 **	4.00 **	13.33 **	1.12 **	0.24 **
	1.5	3.33 **	5.00 **	13.00 **	1.11 **	0.22 **
BA	0	2.28 control	1.00 control	5.55 control	0.86 control	0.17 control
	0.5	2.66 **	3.22 **	13.11 **	1.14 **	0.25 **
	1	2.99 **	3.55 **	12.77 **	1.13 **	0.27 **
	1.5	3.05 **	4.88 **	13.66 **	1.13 **	0.24 **

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری نسبت به کنترل هر سطح محیط کشت

**, *, ns are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance in each culture medium

اثر متقابل محیط‌کشت و تنظیم‌کننده رشد بر ریشه‌زائی بلوبری رقم بلوگلد: اثرات ساده محیط‌کشت و تنظیم‌کننده رشد و اثرات متقابل دوگانه محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد، هم‌چنین اثر سه‌گانه تیمارها بر ریزنمونه‌ها در پارامترهای طول ریشه، تعداد ریشه و درصد ریشه‌زایی نسبت به شاهد در سطح یک درصد تفاوت‌های معنی‌داری داشتند. بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی (۶۲/۱۶ درصد) در محیط‌کشت WPM با کاربرد تنظیم‌کننده رشد IBA حاصل شد (جدول ٤).

در همه شاخص‌های اندازه‌گیری شده اثرات ساده، متقابل و سه‌گانه تیمارها در سطح یک درصد تغییرات معنی‌داری داشتند. با توجه به این‌که در تیمار شاهد تنظیم‌کننده‌های رشد وجود نداشتند تحریک ریشه‌زایی انجام نگرفت و ریشه‌ای تولید نشد.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد در ریشه‌زایی بلوبری رقم بلوگلد.

Table 4. Intraction effect of different culture media and type of growth regulators in blueberry root induction.

محیط کشت Culture medium	تنظیم‌کننده رشد Growth regulator	تعداد ریشه Root number	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	درصد ریشه‌زائی (درصد) Rooting percentage (%)
MS	0	$0^{control}$	$0^{control}$	$0^{control}$
	IBA	2.10^{**}	1.50^{**}	45.91^{**}
	IAA	2.02^{**}	2.58^{*}	45.41^{**}
	NAA	1.45^{**}	2.58^{*}	36.95^{**}
WPM	0	$0^{control}$	$0^{control}$	$0^{control}$
	IBA	3.16^{**}	7.00^{**}	62.16^{**}
	IAA	2.23^{**}	3.75^{**}	29.25^{**}
	NAA	2.40^{**}	3.10^{**}	26.08^{**}
AN	0	$0^{control}$	$0^{control}$	$0^{control}$
	IBA	1.81^{**}	3.08^{**}	29.42^{**}
	IAA	1.07^{**}	3.42^{**}	23.25^{**}
	NAA	0.87^{**}	3.67^{**}	18.16^{**}

**، *، ^{ns} به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری

**, *, ^{ns} are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance

اثر متقابل محیط‌کشت و غلظت تنظیم‌کننده رشد بر ریشه‌زائی بلوبری رقم بلوگلد: نتایج مقایسه میانگین جدول ۵ نشان داد در پارامترهای رشدی تعداد ریشه، طول ریشه و درصد ریشه‌زائی کاربرد غلظت‌های مختلف اکسین‌ها (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر) در هر سه محیط کشت (MS، WPM و AN) نسبت به شاهد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار هستند. بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی (۵۹/۷۷ درصد) در محیط‌کشت پایه MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر تنظیم‌کننده رشد حاصل شد (جدول ۵).

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در ریشه‌زایی بلوبری رقم بلوگلد.

Table 5. Intraction effect of different culture media and levels of growth regulators in blueberry root induction.

محیط‌کشت Culture medium	غلظت Concentration	تعداد ریشه Root number	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	درصد ریشه‌زائی (درصد) Rooting percentage (%)
MS	0	0.00 control	0.00 control	0.00 control
	1	2.53 **	2.11 **	54.33 **
	2	2.40 **	3.55 **	59.77 **
	3	2.52 **	3.22 **	56.94 **
WPM	0	0.00 control	0.00 control	0.00 control
	1	3.42 **	4.66 **	47.33 **
	2	3.64 **	8.22 **	55.55 **
	3	3.32 **	5.58 **	53.77 **
AN	0	0.00 control	0.00 control	0.00 control
	1	1.60 **	3.66 **	31.22 **
	2	1.71 **	5.11 **	31.33 **
	3	1.68 **	4.77 **	31.88 **

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری

**, *, ns are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance

اثر متقابل تنظیم‌کننده رشد و غلظت بر ریشه‌زائی بلوبری رقم بلوگلد: نتایج مقایسه میانگین جدول ٦ نشان داد در شاخص‌های رشد تعداد ریشه، طول ریشه و درصد ریشه‌زائی کاربرد غلظت‌های مختلف (۰، ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم بر لیتر) از اکسین‌های متفاوت (IBA، IAA و NAA) در تمامی تیمارها نسبت به شاهد در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است. بیش‌ترین درصد ریشه‌زایی (٦٧/١١ درصد) در محیط‌کشت حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر IAA به دست آمد (جدول ٦).

جدول ٦- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد در ریشه‌زایی بلوبری بلوگلد.

Table 6. Intraction effect of different type and concentretion of growth regulators in blueberry root induction.

تنظیم‌کننده رشد Growth regulators	غلظت Concentration	تعداد ریشه Root number	طول ریشه (سانتی‌متر) Root length (cm)	درصد ریشه‌زائی (درصد) Rooting percentage (%)
0	0	0.00 control	0.00 control	0.00 controll
IBA	1	2.96 **	3.55 **	53.11 **
IAA	2	3.33 **	6.89 **	67.11 **
NAA	3	3.15 **	5.00 **	63.11 **
0	0	0.00 control	0.00 control	0.00 control
IBA	1	2.39 **	3.55 **	42.11 **
IAA	2	2.33 **	5.33 **	44.44 **
NAA	3	2.38 **	4.11 **	44.00 **
0	0	0.00 control	0.00 control	0.00 control
IBA	1	2.20 **	3.33 **	37.66 **
IAA	2	2.10 **	4.66 **	35.11 **
NAA	3	1.98 **	4.47 **	35.50 **

**، *، ns به ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد، ۵ درصد و عدم معنی‌داری

**, *, ns are respectively significant at the probability level of 1%, 5% and non-significance

به‌طورکلی اکسین‌ها باعث تحریک ریشه‌زایی می‌شوند (۱۵). در انگیزش ریشه از شاخساره به‌طور عمده از اکسین‌ها استفاده می‌شود که اثر آن‌ها با نوع و غلظت مورداستفاده در گونه‌های گیاهی تغییر می‌کند. معمول‌ترین اکسین‌های مورداستفاده در تشکیل ریشه، نفتالین استیک اسید (NAA) و ایندول بوتریک اسید (IBA) می‌باشند (۱۶). عقیده بر این است غیر از اکسین عوامل دیگری نیز در ریشه‌زایی نقش دارند. هم‌زمان با تحریک ریشه‌زایی توسط اکسین، انتقال کربوهیدرات‌ها از برگ به‌سوی ریشه، به ریشه‌زایی کمک شایانی کرده و همین امر درصد ماده خشک‌ریشه‌ها را افزایش می‌دهد. به‌طورکلی قندها، ترکیبات حاوی نیتروژن، ترکیبات فنلی و سایر کوفاکتورها در ریشه‌زایی قلمه‌ها مؤثرند (۳۸). در ریشه‌زایی گیاهچه‌های پرآوری شده *Hydrastis canadensis* از غلظت‌های مختلف IBA استفاده کردند و مشاهده کردند که بیش‌ترین میزان توسعه ریشه در محیط MS تکمیل‌شده با ۳ میکرومولار IBA حاصل شد (۳۹) که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. با در نظر گرفتن نقش شناخته‌شده اکسین‌ها و سایتوکنین‌ها و نتایج کاربرد تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد که از طریق تأثیرگذاری بر هورمون‌های درونی نقش خود را ایفا می‌کنند (۴۰). اکسین‌ها مسئول اصلی افزایش طول سلول و درنتیجه افزایش طول اندام‌های گیاه هستند (۲۰).

سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده با محیط: برای سازگاری گیاهچه‌ها به سینی‌های کشت با بستر پیت و پرلیت به نسبت ۷۰ به ۳۰ منتقل و در گلخانه با دمای ۲ ± ۲۲ درجه سانتی‌گراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی با شدت نور ۱۵۰۰ لوکس و ۸ ساعت تاریکی با رطوبت بالای ۷۰ درصد نگهداری شدند. ۹۵ درصد گیاهچه‌های ریشه‌دار شده بعد از انتقال به محیط سازگاری زنده ماندند و به رشد طبیعی خود ادامه دادند. انتقال گیاهچه‌های درون‌شیشه‌ای به محیط سازگاری باید به‌تدریج انجام شود (۳۶) و تغییرات ناگهانی رطوبت، دما و نور به گیاهچه‌ها آسیب می‌زند (۳۷). شکل زیر گیاهان سازگارشده را نشان می‌دهد (شکل ۱).

شکل ۱- گیاهان بلوبری سازگار شده تحت شرایط گلخانه.

Fig. 1. Acclimatized vaccinium plants under greenhouse conditions.

نتیجه‌گیری

با روش کشت‌بافت و دستیابی به توانایی‌های ذاتی گیاهان می‌توان روند طولانی رویش گیاهان را کوتاه کرد. جنس وکسینوم و ارقام مختلف آن مانند بلوگلد دارای ارزش اقتصادی بالایی بوده و نیازمند مطالعه و پژوهش بیش‌تر برای افزایش سطح کشت، تولید محصولات دارویی و غذایی از این گیاه می‌باشد. با توجه به این‌که تکثیر گیاه بلوبری رقم بلوگلد با

روش‌های تکثیر معمولی زمان‌بر بوده و صرفه اقتصادی ندارد، بنابراین روش کشت بافت در تکثیر تجاری این گیاه مهم، اهمیت زیادی دارد؛ بنابراین در پژوهش حاضر پرآوری و ریشه‌زایی این گیاه، با تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف و محیط‌کشت‌های متفاوت موردبررسی قرار گرفت. ازآن‌جایی‌که تنظیم‌کننده‌های رشد ازجمله اکسین و سیتوکینین در کنترل فرآیندهای مختلف و اساسی گیاه همانند رشد، نمو و تنظیم پاسخ به محرک‌های محیطی نقش کاربردی دارند، روشن‌شده است که هر کدام از این تنظیم‌کننده‌ها قادرند با تنظیم سطوح دیگر بر فرآیندهایی همانند اندام‌زایی تأثیرگذار باشند. به‌طورکلی، نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنظیم‌کننده رشد Zeatin با غلظت ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر در محیط‌کشت AN اثرات مؤثری روی شاخه‌زایی بلوبری رقم بلوگلد دارد. در آزمایش ریشه‌زایی نیز تنظیم‌کننده رشد IBA به مقدار ۲ میلی‌گرم بر لیتر در محیط‌کشت WPM اثر بهتری بر پارامترهای ریشه‌زایی از خود نشان داد.

منابع

1. Ratnaparkhe, M. B. (2007). Blueberry. In Fruits and Nuts. Berlin, Heidelberg: *Springer Berlin Heidelberg, Germany*, 4, 217-227.
2. Litwinczuk, W. (2013). Micropropagation of Vaccinium sp. by in vitro axillary shoot proliferation. *Protocols for micropropagation of selected economically-important horticultural plants*, 1, 63-76.
3. Hasanlu, T., Jafarkhani Kermani, M., Dalvand, Y., & Rezazadeh, Sh. (2018). A comprehensive review of the plant genus Vaccinum (iranian Qaraqat). *Journal of Medicinal Plants*, 18 (4), 46-66.
4. Gao, G., & Draper, E. (2010). Growing blueberries in the home garden. *Agriculture and Natural Resources*, 1422, 1-8.
5. Debnath, S. C. (2009). Propagation and cultivation of vaccinium species and less known small fruits. *Latvian Journal of Agronomy/Agronomija Vestis*, 12, 22-29.
6. Akimova, S., Radzhabov, A., Esaulko, A., Samoshenkov, E., Nechiporenko, I., Kazakov, P., & Aisanov, T. (2022). Improvement of Ex Vitro Growing Completion of Highbush Blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) in Containers. *Forests*, 13(10), 1550.
7. Cobo, M. M., Gutiérrez, B., & de Lourdes Torres, M. (2018). Regeneration of mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) plants through axillary bud culture. *In vitro cellular & developmental biology-plant*, 54, 112-116.
8. Yin, L., Chen, Z., Xia, T., Jin, S., Li, Y., Ren, Z., & Li, J. (2017). Effect of different culture conditions on blueberry shoot propagation. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 30(7), 1642-1646.
9. Georgieva, M., & Kondakova, V. (2021). In vitro propagation of Vaccinium corymbosum L. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 27(2), 323-327.
10. Fira, A., Clapa, D., & Badescu, C. (2008). Aspects regarding the in vitro propagation of highbush blueberry cultivar blue crop. *Bulletin UASVM, Horticulture*, 65(1), 104-109.
11. Mohammadnia, K., Parsaian, M., Chokhachizadeh Moghadam, M., & Hosseinpour, b. (2017). The effect of different concentrations of zaatin and Dikegulac on the growth of blueberry plants. *3rd International Congress and 15th National Congress of Agriculture and Plant Breeding of Iran*, 5 p. [In Persian]
12. Sedlak, J., & Paprstein, F. (2009). Micropropagation of highbush blueberry cultivars. *Latvian Journal of Agronomy/ Agronomija Vestis*, 12, 108-113.

13.Cappelletti, R., & Mezzetti, B. (2014). TDZ, 2iP and zeatin in blueberry (Vaccinium corymbosum L.'Duke') in vitro proliferation and organogenesis. *In XXIX International Horticultural Congress on Horticulture: Sustaining Lives, Livelihoods and Landscapes (IHC2014)*, 1117, 321-324.

14.Mereti, M., Grigoriadou, K., & Nanos, G. D. (2002). Micropropagation of the strawberry tree, Arbutus unedo L. *Scientia horticulturae*, 93(2), 143-148.

15.Meszaros, A. (2006). Application of methods suitable for improving the efficiency of Invitro propagation on horticultural plants. PhD Thesis. Corvinus University of Budapest.

16.Swamy, S. L., Puri, S., & Singh, A. K. (2002). Effect of auxins (IBA and NAA) and season on rooting of juvenile and mature hardwood cuttings of Robinia pseudoacacia and Grewia optiva. *New Forests*, 23, 143-157.

17.Makunga, N. P., Jäger, A. K., & van Staden, J. (2006). Improved in vitro rooting and hyperhydricity in regenerating tissues of *Thapsia garganica* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 86, 77-86.

18.Tetsumura, T., Matsumoto, Y., Sato, M., Honsho, C., Yamashita, K., Komatsu, H., ... & Kunitake, H. (2008). Evaluation of basal media for micropropagation of four highbush blueberry cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119(1), 72-74.

19.Hassandokht, M., & Ebrahimi, R. (2006). *Fundamentals of Plant Tissue Culture*. Marz-e Danesh Publications, First Edition, 328 p. [In Persian]

20.Taiz, L., & Zeiger, E. (2010). Plant physiology 5th ed. Sunderland: Sinauer Associates, 782 p.

21.Tiwari, V., Tiwari, K. N., & Singh, B. D. (2001). Comparative studies of cytokinins on *in vitro* propagation of *Bacopa monniera*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 66, 9-16.

22.Sajc, L., Kovačević, N., Grubišić, D., & Vunjak-Novaković, G. (1999). Frangula species: In vitro culture and the production of anthraquinones. *Medicinal and Aromatic Plants*, 43, 157-176.

23.Anjarsari, I. R. D., Hamdani, J. S., Suherman, C., & Nurmala, T. (2019). Effect of pruning and cytokinin application on the growth of tea GMB 7 clone. *Asian Journal of Plant Sciences*, 18(3), 110-116.

24.Mozafarzadeh, S. F., Hosseinpour, B., Ibrahim, A., & Bushehri, M. (2013). The effect of different culture media and benzyl adenine concentration on raspberry (*Rubus idaeus*) tissue culture. The first international congress and the 10th national congress of genetics, Tehran. [In Persian]

25.Mangena, P. (2020). Benzyl adenine in plant tissue culture-succinct analysis of the overall influence in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill.) seed and shoot culture establishment. *Journal of Biotech Research*, 11, 23-34.

26.Ostrolucká, M. G., Libiaková, G., Ondrußková, E., & Gajdoßová, A (2004). In vitro propagation of In vitro Vaccinium species Vaccinium. *Acta Universitatis Latviensis*, 676, 207-676.

27.Jiang, Y. Q., Hong, Y., De-Qiao, Z., Shan-An, H., & Chuanyong, W. (2009). Influences of media and cytokinins on shoot proliferation of 'Brightwell' and 'Choice'blueberries in vitro. *Acta Horticulturae*, 810, 581-586.

28.Ružić, D., Vujović, T., Libiakova, G., Cerović, R., & Gajdošova, A. (2012). Micropropagation in vitro of highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Journal of berry research*, 2(2), 97-103.

29.Sabovljević, A., Sabovljević, M., & Vukojević, V. (2010). Effects of different cytokinins on chlorophyll retention in the moss Bryum argenteum (Bryaceae). *Periodicum biologorum*, 112(3), 301-305.

30.Dobránszki, J., & Mendler-Drienyovszki, N. (2014). Cytokinin-induced changes in the chlorophyll content and fluorescence of in vitro apple leaves. *Journal of plant physiology*, 171(16), 1472-1478.

31.Cuce, M., & Sokmen, A. (2015). Micropropagation of *Vaccinium myrtillus* L.(Bilberry) naturally growingin the Turkish flora. *Turkish Journal of Biology*, 39(2), 233-240.
32.DelPozo, J. C., Lopez-Matas, M. A., Ramirez-Parra, E., & Gutierrez, C. (2005). Hormonal control of the plant cell cycle. *Physiologia Plantaru*, 123(2), 173-183.
33.Bakhshipour, M. (2015). Micro-propagation of (*Frangula alnus* Mill.). MSc thesis, University of guilan, Rasht. Iran.
34.Hausman, J. F. (1993). Changes in peroxidase activity, auxin level and ethylene production during root formation by poplar shoots raised *in vitro*. *Plant Growth Regulation*, 13(3), 263-268.
35.Nissen, S. J., & Sutter, E. G. (1990). Stability of IAA and IBA in nutrient medium to several tissue culture procedures. *HortScience*, 25(7): 800-802.
36.Debnath, S. C. (2006). Influence of propagation method a nd indole-3-butyric acid on growth and development of in vitro-and ex vitro-derived lingonberry plants. *Canadian Journal of Plant Science*, 86(1), 235-243.
37.Biswas, M. K., Islam, R., & Hossain, M. (2007). Somatic embryogenesis in strawberry (*Fragaria sp*.) through callus culture. *Plant cell, tissue and organ culture*, 90, 49-54.
38.Fathi, G. H., & Smaeilpour, B. (2000). *Materials and plant growth regulators*. Mashhad Academic Jihad Publications. 288 p.
39.He, S. S., Liu, C. Z., & Saxena, P. K. (2007). Plant regeneration of an endangered medicinal plant *Hydrastis canadensis* L. *Scientia Horticulturae*, 113(1), 82-86.
40.Gaspar, T., Kevers, C., Faivre-Rampant, O., Crevecoeur, M., Penel, C., Greppin, H., & Dommes, J. (2003). Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cell. Development Biology Plant*, 39, 85-105.