بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد(BA و IBA)در باززایی کشت درون شیشه‌ای تمشک فرنگی(*Rubus spp.*)

اکرم یوسفی
دانشجوی کارشناسی ارشد گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
akram.yosefi@ymail.com
حسین مرادی
استادیار گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
h.moradi@sanru.ac.ir
مهدی حدادی نژاد
استادیار گروه باغبانی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
m.hadadinejad@sanru.ac.ir

چکیده

تمشک فرنگی (Rubus spp.) از جمله میوه های ریز که در ایران در حال گسترش و تجاری سازی است. یکی از روش های تکثیر فراوان و یکنواخت تمشک فرنگی، کشت در شرایط درون شیشه ای است. دراین پژوهش اثر غلظتهای مختلف سیتوکنینBA و اکسینIBA بر باززایی تمشک فرنگی مطالعه گردید. صفاتی همچون اندازه گیاه، تعداد گره و برگ و طول شاخساره و ریشه و همچنین رنگیزه های فتوسنتزی اندازه‌گیری شد. نتایج این پژوهش نشان دادکه استفاده از هورمون BA به همراه غلظت های بالای IBA موجب افزایش اندازه گیاهچه و افزایش رنگیزه های فتوسنتزی شده است. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از غلظت های بالای BA صفاتی نظیر تعداد برگ و تعداد گره، را افزایش داده است. بررسی صفات طول و تعداد ریشه گیاهچه ها نشان داد که افزایش غلظت BA موجب کاهش این صفات شده است. به طورکلی می توان گفت که استفاده از BA به همراه IBA برای صفات رویشی موثر می باشد، اما IBA به تنهایی در غلظت های بالاتر بر ریشه زایی اثر گذار است.

کلمات کلیدی: کشت بافت،BA ، IBA ، کلروفیل

۱. مقدمه

تمشک فرنگی از جنس *Rubus* و از خانواده Rosaceae که گیاهان در این جنس دارای تنوع زیادی هستند. این گیاه از مهمترین ریزمیوه ها در دنیا بوده که به دلیل رنگ و طعم مناسب، با استقبال زیادی مواجه شده است(Lebedev *etal*,2019) . میوه آن دارای محتوای فنول و آنتوسیانین بالا است. تمشک فرنگی منبع خوبی از مواد آنتی اکسیدانی طبیعی است. بنابراین، آنتی اکسیدان های مختلفی که در میوه های ریز یافت می شوند، مزایای سلامتی قابل توجهی دارند(حسن پور،۲۰۱۵). تولید جهانی تمشک فرنگی در سال ۲۰۱۶ به میزان ۶۶۸۳۹۲ تن بوده است، در حالی که روسیه ۲۵ در صد از این میزان را تامین می کند که ۱۶۴ هزار تن آن می باشد. طبق آمار خواربار جهانی(فائو) دیگر تولید کنندگان بزرگ تمشک شامل ، ایالات متحده با۱۳۷ هزار تن، لهستان با ۱۲۹ هزار تن، مکزیک با ۱۱۲ هزار تن و صربستان با ۶۱ هزار تن از تولیدکنندگان عمده تمشک جهان می باشند(فائو،۲۰۱۶).

جهت افزایش کشت و کار تمشک فرنگی نیاز فراوان به بوته های سالم می باشد. روش های مختلفی برای تکثیر استفاده می شود که از جمله روش های تکثیر آن می توان به کشت درون شیشه ای آن اشاره نمود. در اواخر دهه ۱۹۷۰ و اوایل دهه ۱۹۸۰، تکنیک های کشت درون شیشه ای یا کشت بافت برای انتشار همه انواع تمشک آغاز شد (Kiss and Zatykom,1978، ؛ Anderson,1980 ؛ Pyott and Converse,1981). ریزازدیادی با استفاده از جوانه های انتهایی یا جانبی به طور معمول برای تولید انبوه گیاهان استفاده می شود.

شرایط مختلف کشت، مواد غذایی و تنظیم کننده‌های رشد برای ریزافزایی ریزمیوه‌ها مورد بررسی قرار گرفت (دبنات و همکاران ۲۰۰۶). نتایج به دست آمده با رقم‌های مختلف گونه‌های وحشی نشان داد که گیاه تمشک *R.ideaus* بالاترین پتانسیل ریشه‌زایی در محیط کشت نسبتا ساده درون شیشه را دارد. کیفیت بالاریشه‌زایی در کشت درون شیشه از نظر تعداد، طول و قدرت توسعه ریشه که پیش نیاز ضروری برای سازگاری با محیط خارج است گزارش شد (جورجیوا و همکاران ۲۰۱۶). تاکنون کوشش‌هایی برای تکثیر تمشک *R.ideaus* در محیط کشت درون شیشه صورت گرفته و طبق پژوهش‌های به دست آمده نوع ریزنمونه و همچنین غلظت هورمون‌های به کاربرده شده می‌تواند در باززایی موثر باشد. از عوامل اصلی موفقیت برنامه‌های کشت بافت گیاهی محسوب می شود، افزایش تعداد شاخساره است. هورمون سایتوکنین در القاء شاخساره و تنظیم کننده رشد ایندول بوتیریک اسید در ریشه‌زایی تمشک سیاه موثر می‌باشند (مظفرزاده و همکاران، ۱۳۹۳).

طبق بررسی‌های انجام شده، تنظیم کننده رشد بنزیل آدنین بیشترین تاثیر را در باززایی تمشک *R.ideaus* دارد (جنینگ و همکاران ۱۹۸۸). هدف از انجام این پژوهش تعیین بهترین غلظت اکسین و سایتوکنین به تنهایی و با هم در باززایی تمشک فرنگی می باشد.

مواد و روش ها

برای انجام این آزمایش بوته های تمشک فرنگی رقم سپتامبر از دانشکده کشاورزی کرج تهیه شد جهت رشد خوب و رسیدن به اندازه مناسب به مدت چند ماه در شرایط گلخانه ای نگهداری شدند. پس از اعمال سرمادهی و از بین بردن رکود، جوانه‌ها از بوته اصلی جدا شده و به آزمایشگاه منتقل گردید. در ادامه پس از آنکه با اتانول و هیپوکلریت سدیم ضدعفونی گردید، در محیط کشت MS حاوی تنظیم کننده های رشد مستقر شد.

به منظور استقرار، نمونه های گندزدایی شده در محیط‌های پایه موراشیگی و اسکوگو در شیشه های شفاف با ساکاروز ۲۰ گرم در لیتر، آگار ۷/۵ گرم در لیتر و pH محلول قبل از اتوکلاو کردن ۵/۸ کشت شدند. اتاق رشد با دمای ۲۲ درجه سانتیگراد و نور سفید فلورسنت و ۱۶/۸ ساعت فتوپریود و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس نگهداری شد.

صفات بررسی شده

در این آزمایش پس از انجام ضدعفونی بهترین روش گندزدایی انتخاب گردید و سپس باقی مراحل انجام شد.. پس از انجام کشت اصلی و رشد کافی ریز نمونه ها صفاتی همچون تعداد و طول(با استفاده از کولیس دیجیتال) مورد اندازه گیری قرار گرفت. اندازه‌گیری کلروفیل ها و کارتنوئید نیز به روش لیختنتالر(۱۹۸۷) صورت گرفت.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با دو فاکتور و ۴ تکرار که هر تکراری شامل ۵ ریزنمونه انجام شد. کشت ریزنمونه‌ها در محیط های حاوی تیمارهای هورمونی شامل تیمار بنزیل آدنین در سه سطح ۰، ۰/۴و ۱ میلیگرم در لیتر و ایندول بوتیریک اسید در سه سطح ۰، ۰,۱و ۰/۵ میلیگرم در لیتر بوده که در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی ساری انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار SASو مقایسه میانگین با استفاده از آزمون دانکن صورت گرفت. رسم نمودار با استفاده از نرم افزار اکسل(۲۰۱۶) انجام شد.

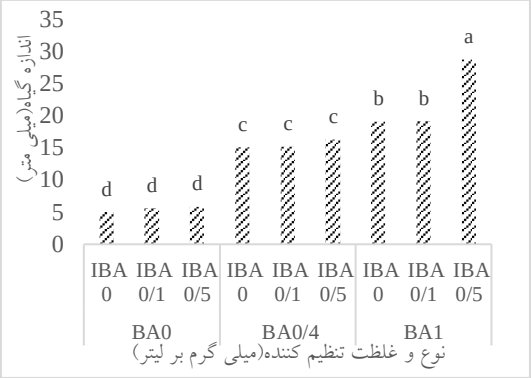
نتایج و بحث

نتایج بررسی جدول تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل تنظیم کننده های BA و IBA بر اندازه گیاه، کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید معنی دار شد. اثر ساده BA و IBA نیز بر طول دمبرگ، تعداد و طول ریشه معنی دار شد. همچنین اثر BA بر صفات تعداد برگ، تعداد گره، طول برگ، طول پهنک، قطر دمبرگ آخر، میزان سبزی گیاه و عرض پهنک در سطح احتمال یک درصد معنی دار مشاهده گردید. در بررسی تعداد و طول ریشه نیز نتایج حاکی از آن بود که اثر ساده BA و IBA بر آنها معنی دار شد(جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات رویشی ریزنمونه های تمشک

منابع تغییرات	درجه آزادی	اندازه گیاه	تعداد برگ	تعداد گره	طول برگ	طول دمبرگ	تعداد ریشه	طول ریشه	کلروفیل a	کلروفیل b	کارتنوئید
		میانگین مربعات									
BA	۲	۸۹۲,۲**	۱۲۲۱**	۲۰۴,۳۶**	۶۷۳,۱**	۲۱۳,۴**	۳۲۱,۶**	۲۷۵,۲**	۵,۲۶۶**	۵,۱۶**	۴,۷۸**
IBA	۲	۳۹,۲۳**	۲۱ns	۳,۶۹ ns	۱۹,۲۶ns	۸,۵۱**	۹,۰۴**	۷,۱۱**	۰,۵۴۷**	۰,۵۱۵**	۰,۴۱۲**
BA*IBA	۴	۴۷,۶۹**	۲۱,۵۸ns	۱,۱۹ ns	۶,۴۶ ns	۲,۷۳ ns	۳,۲۳ ns	۴,۱۳ ns	۰,۰۸۰**	۰,۰۶۹**	۰,۰۵۸**
خطا	۲۷	۲,۶۲	۲۰,۶۰	۲,۳۹	۷,۱۳	۱,۹۸	۳,۵۸	۲,۰۸	۰,۰۰۸	۰,۰۰۹	۰,۰۰۷
ضریب تغییرات		۱۰,۸۱	۲۴,۲۸	۱۶,۹۲	۲۳,۶۰	۱۳,۶۱	۱۸,۹۴	۱۶,۴۲	۱۱,۲۸	۱۰,۳۱	۱۳,۱۱

ns و * و ** به ترتیب به به معنای عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ درصد و ۱ درصد می‌باشد.

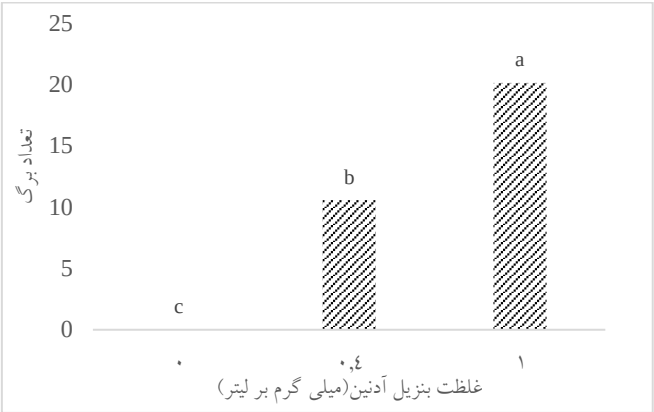


شکل ۱- اثر نوع و غلظت تنظیم کننده بر اندازه گیاهچه

اندازه گیاه با افزایش غلظت تنظیم کننده ها افزایش یافت. هنگامی که BA در محیط کشت حضور نداشت، استفاده از غلظت های مختلف IBA اثری بر اندازه گیاه نداشت. با اضافه شدن۰/۴ میلی گرم در لیتر BA اندازه گیاه نسبت به شاهد با افزایش سه برابری همراه بود. تنظیم کننده IBA با غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر و در حضور یک میلی گرم بر لیتر BA بر اندازه اثر گذار بود، به طوریکه در این تیمار جهشی در اندازه گیاه رخ داده و حدودا شش برابر تیمار شاهد بدست آمد(شکل ۱).

شکل ۲- اثر نوع و غلظت بنزیل آدنین(الف) و ایندول بوتریک اسید(ب) بر طول دمبرگ

بررسی اثر بنزیل آدنین بر طول دمبرگ نشان داد که با افزایش غلظت این تنظیم کننده در محیط کشت طول دمبرگ افزایش یافت، به طوریکه در غلظت یک میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین، با ۸/۴۳ میلی متر بیشترین طول دمبرگ مشاهده گردید(شکل ۲- الف). همچنین اثر ایندول بوتریک ا سید حاکی از آن بود که طول دمبرگ در تیمارهای صفر و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر با یکدیگر تفاوت معنی داری ندا شته، اما در غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر اختلاف معنی داری با سایر تیمارها دا شته و بیشتر از آنها می باشد(شکل ۲- ب).

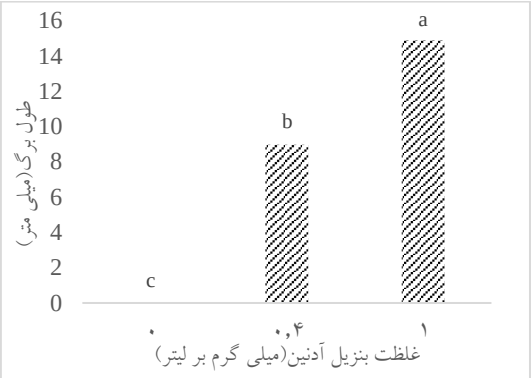


شکل ۳- اثر غلظت های بنزیل آدنین بر تعداد برگ

نتایج نشان داد که تعداد برگ تنها تحت تاثیر بنزیل آدنین قرار گرفت، بدین صورت که با افزایش غلظت این تنظیم کننده تعداد برگ افزایش معنی داری نشان داد. در تیمار شاهد هیچ برگی تولید نشد، اما با افزایش غلظت بنزیل آدنین، تعداد برگ با افزایش همراه بود، به طوریکه در غلظت یک میلی گرم بر لیتر حدود ۲ برابر بیشتر از تیمار ۰/۴ میلی گرم بر لیتر مشاهده گردید(شکل۳).

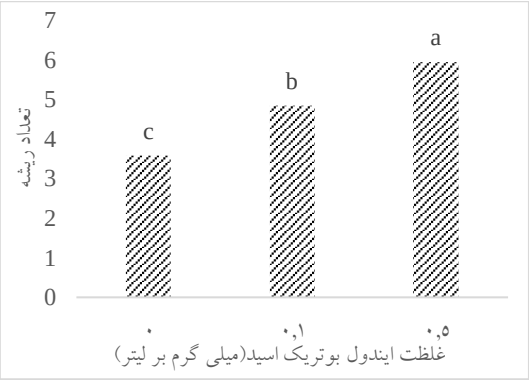
شکل ۴- اثر غلظت های بنزیل آدنین بر تعداد گره

تعداد گره هنگامی که بنزیل آدنین استفاده گردید، افزایش معنی داری نسبت به شاهد نشان داد. در تیمار ۰/۴ میلی گرم بر لیتر ۴/۳۳ و در تیمار یک میلی گرم بر لیتر، ۸/۲۵ عدد گره تولید گردید(شکل ۴).



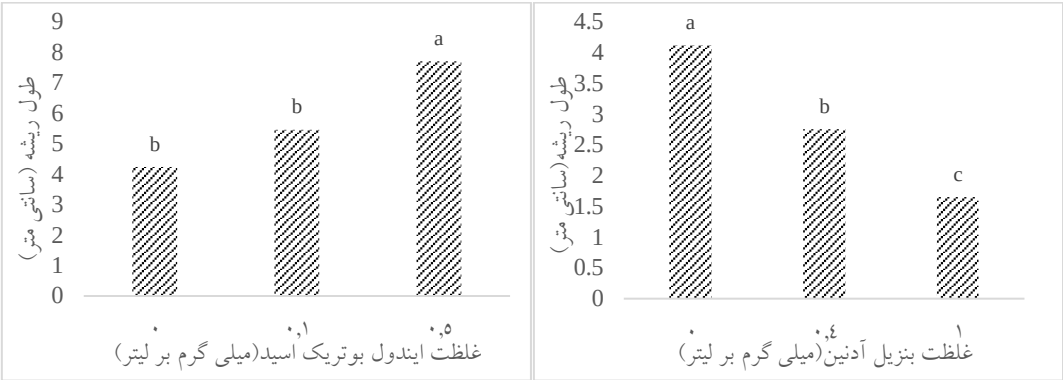
شکل ۵- اثر غلظت های بنزیل آدنین بر طول برگ

در بررسی طول برگ نتایج حاکی از آن بود که اگرچه در تیمار شاهد برگی وجود نداشت اما با اضافه شدن بنزیل آدنین و تولید برگ، بر طول برگ نیز اثر معنی داری داشت. در مقایسه دو تیمار بنزیل آدنین مشخص گردید که افزایش غلظت BA موجب افزایش طول برگ شده است. به طوریکه در تیمار یک میلی گرم بر لیتر BA میانگین طول برگ ۱۴/۸۷ میلی متر و در تیمار ۰/۴ میلی گرم بر لیتر BA طول برگ ۸/۹۷ میلی متر مشاهده گردید(شکل ۵).



شکل ۶- اثر نوع و غلظت بنزیل آدنین(الف) و ایندول بوتریک اسید(ب) بر تعداد ریشه

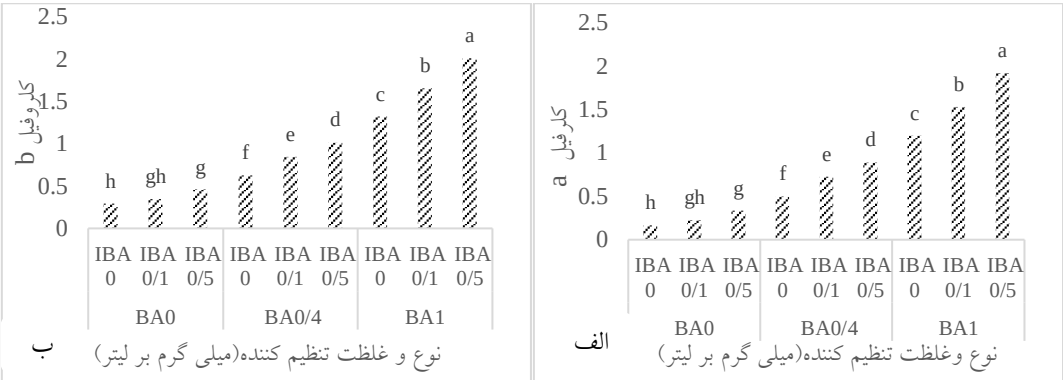
نتایج بررسی تعداد ریشه نشان داد که این صفت هنگامی که سیتوکنین BA در محیط کشت افزایش یافت، با کاهش همراه بود. به طوریکه در تیمار یک میلی گرم بر لیتر بنزیل آدنین کمترین تعداد ریشه بدست آمد(شکل ۶- الف). همچنین اثر IBA بر تعداد ریشه حاکی از آن بود که استفاده از این اکسین موجب افزایش تعداد ریشه گردید(شکل ۶- ب).

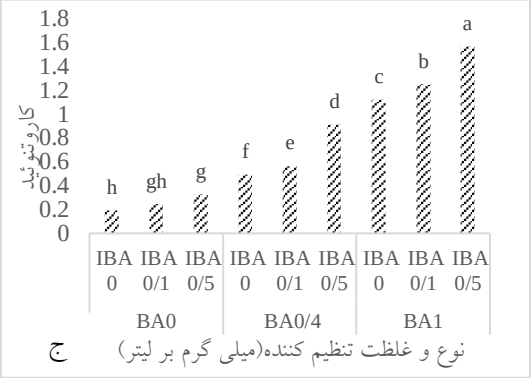


شکل ۷- اثر نوع و غلظت بنزیل آدنین(الف) و ایندول بوتریک اسید(ب) بر طول ریشه

اثر BA بر طول ریشه نیز همانند تعداد آن منفی بود. به طوریکه با افزایش غلظت این تنظیم کننده طول ریشه با کاهش همراه بود. بیشترین طول ریشه در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار یک میلی گرم بر لیتر BA حاصل شد(شکل ۷-الف). در بررسی اثر IBA مشخص گردید که افزایش غلظت آن موجب افزایش طول ریشه شد. در غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر بیشترین طول ریشه و در تیمار شاهد کمترین آن مشاهده گردید(شکل ۷- ب).

نتایج بررسی رنگیزه های فتوسنتزی حاکی از بود که نحوه واکنش کلرفیل a ، کلروفیل b و کارتنوئید نسبت به تنظیم کننده ها روند یکسانی را نشان دادند. با افزایش غلظت BA به همراه IBA میزان رنگیزه های فتوسنتزی افزایش یافت. به طوریکه در غلظت یک میلی گرم بر لیتر BA و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IBA بیشترین مقدار این رنگیزه ها بست آمد.





شکل ۱۲- اثر نوع و غلظت تنظیم کننده بر رنگیزه های فتوسنتزی

بحث:

نتایج نشـــان داد که اندازه گیاه تحت تاثیر BA قرار گرفت و کاربرد IBA تنها زمانی اثر گذار بود که در غلظت بالای BA اعمال گردید. صفات رویشی از قبیل تعداد برگ، گره، و... با افزایش غلظت BA افزایش یافت. هارتمن (۱۹۹۶) گزارش نمود که هر دو هورمون اکسـین و سـیتوکنین در اندام زایی مهم هسـتند و به عنوان تسـهیل کننده این فرایند عمل میکنند. نتایج این پژوهش نیز نشان داد که کاربرد همزمان این دو هورمون در غلظت های مناسب همین روند را نشان می دهد. در پژوهشی که بر گیاه توت فرنگی انجام شد، نتایج نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره در غلظت ۱ میلیگرم در لیتر BA حاصل شد و در غلظت های بیش از ۱ میلیگرم در لیتر و کمتر از ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA باززایی توت فرنگی کاهش یافته و شـــاخســـاره کمتری تولید شدند(گردکانه و همکاران،۱۳۹۰)، که با نتایج این پژوهش همسو می باشد.

طی بررسی نجف آبادی و همکاران (۲۰۰۹) که بر تمشک سیاه انجام گرفت، نتایج نشان داد که در میان انواع محیط های آزمایش شده برای تکثیر جوانه جانبی، بهترین نتایج توسط محیط MS با ۲ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۳ میلی گرم در لیتر GA3 بدست آمد، در حالی که برای ریشه زایی، محیط MS با ۲ میلی گرم در لیتر IBA بهتر بود. طبق آزمایش دیگری که بر تمشک سیاه رقم ' Čačanska bestrna` انجام گرفت، بالاترین میزان تکثیر از طریق محیط MS با ۱ میلیگرم بر لیتر BAP ، ۰/۱ میلی گرم بر لیتر IBA و ۰/۱ میلی گرم بر لیتر GA3 بدســـت آمد (روزیک و لازیک، ۲۰۰۶). در این پژوهش نیز نتایج حاکی از آن بود که استفاده BA و IBA اثر مثبت بر صفات مورد بررسی داشت.

در پژوهشـــی دیگر تنظیم کننده رشـــد بنزیل آدنین (BA) تعداد شـــاخســـاره و وزن‌تر و خشـــک اندام هوایی را در تمشـــک *R.ideaus* افزایش داد و بهترین نتیجه با کشـــت جوانه جانبی با غلظت ۱ میلیگرم بر لیتر BA و ۵۰ میکرومول در لیتر SNP به‌دست آمد (قدکچلی و همکاران، ۱۳۹۳)، که با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

در پژوهش دیگری که بر روی دو رقم تمشک *R.ideaus* انجام گرفته جوانه‌های جانبی و انتهایی از شاخه‌های یکساله به عنوان ریزنمونه انتخاب شدند و بهترین مقدار BAP، یک میلیگرم در لیتر در محیط کشت MS و ریشه‌زایی ۱۰۰ درصد در محیط کشت MS و ۰/۵ میلیگرم در لیتر IBA به دست آمد (استوسکا و همکاران ۱۹۹۵).

تعداد و طول ریشه با افزایش IBA افزایش و با افزایش BA کاهش یافت. نتایج بررسی نوروزی و همکاران (۱۳۹۷) نشان داد که استفاده از IBA با غلظت ۰/۸ میلی گرم در لیتر بیشترین اثر را بر طول و تعداد ریشه داشته است. همچنین در پژوهشی Abido et al.(۲۰۱۳) بر ریشه زایی انگور نشان دادند که در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر IBA بیشترین میزان ریشه زایی حاصل گردید.

به طور معمول از تنظیم کننده اکسین در مراحل مختلف ریشه زایی استفاده می شود. هورمون اکسین در گیاهان معمولا باعث تحریک ریشه زایی و جلوگیری از ایجاد شاخه های جانبی می شود . یکی از متداول ترین اکسین ها در کشت بافت گیاهی هورمون IBA می باشد. Mathur و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که شاخه های حاصل از کشت این ویترو در محیط حاوی IBA ریشه دار شدند که پژوهش حاضر همخوانی دارد.

گزارش شده است که از بین انواع اکسین های مورد استفاده در ریشه زایی، اکسین IBA موثرترین اکسین در ریشه زایی بیشتر گیاهان می باشد(Makunga et al,2006). تولید ریشه در گیاهان تحت تأثیر سنتز، متابولیسم، انتقال و مسیرهای انتقال علائم اکسین میباشد (جرج و همکاران، 2008).

رنگیزه های فتوسنتزی با افزایش تنظیم کننده ها افزایش یافت. در آزمایشی کاربرد بنزیل آدنین به عنوان سیتوکنین با غلظت ۵ میلی گرم در لیتر باعث افزایش مقدار کلروفیل شد(Towne and Owensby,1983). همچنین در میان تنظیم کننده های رشد، سیتوکنین ها نقش حیاتی در جهت افزایش تقسیم سلولی، بیوسنتز کلروفیل و تعدیل غالبیت انتهایی در گیاهان دارند(Taiz and Zeiger,2006).

برخی مطالعات نشان می دهد که تنظیم کننده رشد کننده های برای انتقال و تسهیم فراورده های فتوسنتزی ضروری هستند(Ahmadi and Baker,1999). سیتوکنین ها نقش مهمی را در تنظیم رشد و نمو گیاه بازی می کنند. سیتوکینین باعث تجمع کلروفیل و تبدیل اتیوپلاست به کلروپلاست و تأخیر پیری برگ می شوند(Brault, and Maldiney,1999). این هورمون ها از تخریب کلروفیل جلوگیری میکند و باعث تاخیر در تجزیه کلروفیل میشود. (Alberte and Naylor, 1975).

در فرضیه ای بیان شد که اکسین ممکن است به همراه سیتوکینین باعث تحریک تقسیم سلولی شود. در آزمایشی سطوح بالای اکسین در مقصد توانست ایجاد یک قدرت جذب کند که این امر منجر به افزایش سطوح سیتوکینین شد(Singh and

Gerung,1982). به نظر می رســـد به همین دلیل کاربرد همزمان این دو تنظیم کننده توانســـته موجب افزایش رنگیزه های فتوسنتزی در ریز نمونه ها گردد.

۳. نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که استفاده همزمان از تنظیم کننده های رشد BA و IBA در محیط کشت ریز نمونه های تمشک فرنگی موجب اثرگذاری مثبت بر صفات مورد بررسی شده است. استفاده از هورمون BA به همراه غلظت های بالای IBA موجب افزایش اندازه گیاهچه و قطر دمبرگ شده است. همچنین نتایج نشان داد که استفاده از غلظت های بالای BA صفاتی نظیر تعداد برگ، تعداد گره، تعداد میانگره، طول برگ، طول و عرض پهنک را افزایش داده است. بررسی صفات طول و تعداد ریشه گیاهچه ها نشان داد که افزایش غلظت BA موجب کاهش این صفات شده است. استفاده از IBA در سطوح بالاتر تعداد و طول ریشـــه را افزایش داد. بررســـی نتایج اثر BA و IBA بر رنگیزه های فتوســـنتزی حاکی از آن بود که افزایش این تنظیم کننده ها موجب افزایش کلروفیل a ، کلروفیل b و کارتنوئید شده است. به طورکلی می توان گفت که استفاده از BA به همراه IBA برای صفات رویشی موثر می باشد، اما IBA در غلظت های بالاتر بر ریشه زایی اثر گذار است.

مراجع

۱. قدکچی اصل. ع، ع.ا. مظفری و ن. قادری، ۲۰۱۵، تاثیر نیتروپروساید بر باززایی گیاه تمشک (*Rubus idaeus*)، در شرایط درون شیشه، کنفرانس بین المللی چالش ها و استرتژیهای توسعه پایدار باتمرکز بر منابع طبیعی کشاورزی و توریسم، تبریز، ایران.

۲. گردکانه، م. مظفری، ع ا. غلامی، ر. ۱۳۹۰. اثر غلظتهای مختلف تنظیم کننده های رشد بر باززایی و پرآوری شاخساره ارقام توت فرنگی(*Fragaria ananassa* Duch.). مجله فن آوری تولیدات گیاهی، ۱۱(۱)، صفحه ۳۵-۲۵.

۳. مظفرزاده. س، ب. حسین پور، آ. ابراهیمی، س. شتاب بوشهری و س. ترابی، ۱۳۹۳، اثر انواع محیط کشت و غلظت هورمون بنزیل آدنین بر پرآوری درون شیشه گیاه تمشک (*Rubus idaeus*)، اولین کنگره بین المللی و سیزدهمین کنگره ژنتیک ایران، تهران، ایران.

۴. نوروزی، ا.ناصری، ل. نجف زاده ر.۱۳۹۷. بررسی اثر غلظت‌های مختلف تیمارهای هورمونی بر کشت درون‌شیشه‌ای انگور بیدانه قرمز. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۱۰(۱)، صفحه ۱۳۸-۱۱۹.

5. Abido, A. S., Aly, M. M., Hassanen, A. S and Rayan, A. G. (2013). In vitro Propagation of Grapevine (Vitis vinifera L.) Muscat of Alexandria cv. For Conservation of Endangerment Middle-East Journal of Scientific Research 13 (3): 328-337.
6. Ahmadi, A. and Baker, D.A. 1999. Effects of abscisic acid (ABA) on grain filling processes in wheat. Plant Growth Regul. 28: 187–197.
7. Alberte R. S. and Naylor A. W. (1975) The role of cytokinins in chloroplast lamellar development. Plant physiology 55(6): 1079-1081.
8. Anderson WC (1980) Tissue culture propagation of red and black raspberries, *Rubus idaeus*, and *R. occidentais*. Acta Horticulture 112:13-20.

9. Brault, M., Maldiney, R. 1999.Mechanisms of cytokinin action. Plant Physiol. Biochem. 37: 403-412.
10. Debnath, S. C. 2006. Zeatin overcomes thidiazuron-induced inhibition of shoot elongation and promotes rooting in strawberry culture *in vitro*. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 81:349-354.
11. FAO. (2016). Food and Agriculture Organization of the United Nations Website. in: http:// http://www.faosat.org.
12. George, E. F., M. A. Hall and G.-J. De Klerk. (2008). The components of plant tissue culture media I: macro-and micro-nutrients. Plant propagation by tissue culture. Springer. pp. 65-113.
13. Georgivea M, I Badjakov, I Dinchiva, S Yanchieva and V Kondakova, 2016, In vitro propagation wild Bigarian small berry fruit (bilberry, ligonberry, raspberry and strawberry), Bulg. J. Agric. Sci. 22 46-51.
14. Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T. and Geneve, R. L. 1996. Plant propagation principles and practices. Prentice Hall. New Jersey. 22 pp.
15. Hassanpour, H., 2015. Effect of Aloe vera gel coating on antioxidant capacity, antioxidant enzyme activities and decay in raspberry fruit. *LWT-Food Science and Technology*, *60*(1), pp.495-501.
16. Jennings, D.L. (1988) *Raspberries and Blackberries: Their Breeding, Diseases and Growth*. Academic Press, San Diego, California.
17. Kiss, F. and Zatyko, J., 1978. Vegetative propagation of Rubus species in vitro [bramble-raspberry variety 9001/174, Thornfree bramble variety, Rubus Mohacsyanus Porp.]. *Botanikai Kozlemenyek*.
18. Lebedev, V., Arkaev, M., Dremova, M., Pozdniakov, I. and Shestibratov, K., 2019. Effects of Growth Regulators and Gelling Agents on Ex Vitro Rooting of Raspberry. *Plants*, *8*(1), p.3.
19. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymol. 148: 350-382.
20. Makunga, N. P., A. K. Jager and J. V. Staden. (2006). Improved in vitro rooting andhyperhydricity in regeneration tissues of *Thapsi graganica* L. Plant Cell Tissue Organ Cult. 86:77-86.
21. Mathur, N., Ramawat, K.G. and Sonie, K.C., 1993. Plantlet regeneration from seedling explants of *Zizphus* and silvernitrate and nutrient requirements for callus morphogenesis. Gartenbauwissenchaft, 58:255-260.
22. Najaf-Abadi, A. Jafari and Y. Hamidoghli (2009). Micropropagation of thornless trailing blackberry (Rubus sp.) by axillary bud explants. Australian Journal of Crop Science 3 (4): 191-194,
23. Pyott, J.L. and Converse, R.H., 1981. in vitro propagation of heat-treated red raspberry clones [Virus-free plants]. *HortScience*.
24. Ružić, D. and T. Lazić (2006). Micropropagation as Means of Rapid Multiplication of Newly Developed Blackberry and Black Currant Cultivars. Agric. Conspec. Sci. Vol. 71, No. 4;
25. Singh G. and Gerung S.B. 1982. Hormonal role in the problem of sterility *in Oryza sativa*. Plant Physiol. Biochem. 9: 22–23.
26. Stoevska, T., Trifonova, A. and Karadocheva, D., 1995. Micropropagation of raspberries (Rubus idaeus). *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, *9*(2-3), pp.27-30.
27. Taiz, L. and Zeiger, E. (2006) Plant Physiology, 4th edition. Sinauer Associates Inc. Publishers, Massachusetts, USA.

28. Towne G. and Owensby C. (1983) Cytokinins effect on protein and chlorophyll content of big bluestem leaves. Journal of Range Management 75-77.

Evaluation of the effect of growth regulators (BA and IBA) on regeneration in vitro raspberry (*Rubus* spp.)

Akram yosefi
MSc Student of Horticulture, Sari University of Agricultural Sciences and Natural Resources
akram.yosefi@ymail.com

Hosein moradi
Assistant Professor of Horticulture, Sari University of Agricultural Sciences and Natural
h.moradi@sanru.ac.ir

Mehdi hadadinejad
Assistant Professor of Horticulture, Sari University of Agricultural Sciences and Natural
m.hadadinejad@sanru.ac.ir

Abstract

Raspberry (*Rubus* spp.) Is one of the small fruits that is growing and commercializing in Iran. One of the methods of prolific and uniform propagation of raspberries is cultivation in vitro. In this study, the effect of different concentrations of cytokines BA and auxin IBA on berry regeneration was studied. Attributes such as plant size, number of nodes and leaves, shoot and root length as well as photosynthetic pigments were measured. The results showed that the use of BA with high concentrations of IBA increased seedling size and increased photosynthetic pigments. The results also showed that using high concentrations of BA increased traits such as leaf number and number of nodes. Examination of plant length and root number showed that increasing BA concentration decreased these traits. Generally, BA with IBA is effective for vegetative traits, but IBA alone affects rooting at higher concentrations.

Keywords: Tissue culture, BA, IBA, Chlorophyll