نشریه پژوهش‌های علوم و فناوری چوب و جنگل
جلد بیست و چهارم، شماره دوم، ۱۳۹۶
http://jwfst.gau.ac.ir

بررسی ریشه‌زائی دورگ‌های بین گونه‌ای صنوبر (*Populus alba x P. euphratica*) از طریق کشت مریستم

*حسین میرزایی ندوشن[1]، صدف خسروان[2]، عباس قمری‌زارع[3] و محمدعلی ابراهیمی[4]

[1]استاد اصلاح نباتات، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران،
[2]کارشناس‌ارشد بیوتکنولوژی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران، [3]دانشیار اصلاح نباتات، موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران، [4]دانشیار زیست‌شناسی گیاهی، دانشگاه پیام‌نور، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۶/۲۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۴/۰۱

چکیده

سابقه و هدف: گونه‌های مختلف صنوبر اهمیت زیادی در زراعت چوب پیدا کرده‌اند و دورگ‌های بین گونه‌های مختلف، امید به افزایش تولید چوب در کشور را افزایش داده‌اند. به‌همین دلیل تلاش‌های زیادی در دورگ‌گیری بین گونه‌های مختلف این جنس صورت گرفته است تا ضمن گسترش اساس ژنتیکی آن‌ها، از همه قابلیت‌های موجود در آن‌ها استفاده شود و دامنه اکولوژیک آن‌ها را نیز افزایش دهد. دورگ‌های بین گونه‌ای ضمن ایجاد تنوع ژنتیکی جدید، تفاوت‌های زیادی نیز با گونه‌های والدینی از خود نشان می‌دهند که در مواردی منشأ ایجاد ارقام پرمحصول هستند. این تحقیق در پی مطالعه تفاوت بین دورگ‌های جدید بین گونه‌های پده (*Populus euphratica*) به‌عنوان والد پدری و کبوده (*P. alba,*) به‌عنوان والد مادری از نظر قدرت ریشه‌زائی است تا در صورت امکان به‌عنوان معیاری در گزینش ژنوتیپ‌های جدید به‌کار گرفته شود.

مواد و روش‌ها: تکثیر رویشی سه دورگ جدید به‌روش کشت جوانه انتهایی انجام شد. ابتدا جوانه‌های فعال و در حال رویش از شاخه برداشت شده و پس از قطع برگ‌های جانبی جوانه‌های انتهایی، با استفاده از محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم سترون شدند. یک تا دو میلی‌متر از جوانه‌های انتهایی در حال رشد جدا شده و بر روی محیط کشت MS با نصف مقادیر نیترات و ترکیب هورمونی IBA به‌میزان ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و BA به‌میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از استقرار برای تکثیر به محیط کشت DKW با ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP و ۰/۰۵ میلی‌گرم درلیتر IBA منتقل شده و در اتاق رشد در شرایط نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. پس از تکثیر، نمونه‌ها به‌دو محیط ریشه‌زائی DKW و ACM منتقل شدند و در پایان صفت‌های مرتبط با ریشه مطالعه و در قالب طرح آماری فاکتوریل تجزیه و تحلیل شدند.

یافته‌ها: دورگ‌های مورد مطالعه از نظر شادابی، طول شاخه و قدرت ریشه‌زائی اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ درصد از خود نشان دادند. به‌نحوی که یکی از دورگ‌ها حتی در مرحله تکثیر و پرآوری هم به‌میزان زیادی ریشه تولید کرد.

*مسئول مکاتبه: nodoushan2003@yahoo.com

این دورگ در مرحله ریشه‌زایی نیز متفاوت از سایر دورگ‌ها ظاهر شد و ضمن تولید ریشه زیاد از نظر طول شاخساره‌های تولیدی نیز برتر از سایر دورگ‌ها بود.

نتیجه‌گیری: دورگ‌های مورد مطالعه از نظر ویژگی‌های رویشی از جمله توان ریشه‌دهی و طول شاخساره در تکثیر از طریق کشت مریستم به‌خوبی از هم متمایز شدند. از این تفاوت‌ها و تنوعی که در بین دورگ‌ها به‌ویژه در قدرت ریشه‌زائی مشاهده شد می‌توان در انتخاب کلن‌های برتری که در تکثیر رویشی هم سهولت ویژه‌ای دارند کمک گرفت.

واژه‌های کلیدی: کشت مریستم، ریشه‌زایی، دورگ بین گونه‌ای، کبوده، پده

مقدمه

صنوبرها ظرفیت زیادی در تولید چوب دارند و این ظرفیت‌ها در بسیاری از کشورهای دنیا به‌خوبی به‌کار گرفته شده است. این گونه‌ها نه تنها در اقتصاد کشورهای تولیدکننده چوب و مواد لیگنوسلولزی نقش مؤثری دارند، بلکه امروزه به‌عنوان یکی از پایه‌های اصلی موردنظر در بحث انرژی زیستی پایدار و حتی به‌دلیل ظرفیت بالای ذخیره کربن در ترسیب کربن مطرح هستند (۲۲). گونه‌های مختلف صنوبر در تولید چوب و نیز سازگاری به‌شرایط مختلف محیطی با هم اختلاف گسترده‌ای دارند و این اختلاف، زمانی تعیین‌کننده می‌شود که گونه صنوبر و شرایط محیطی با یکدیگر اثرات متقابل نشان دهند. اثر متقابل بین گونه یا کلن‌های مختلف صنوبر با شرایط محیطی توسط تعداد زیادی از محققین گزارش شده‌است (۳). با این حال استفاده از توانمندی‌های موجود در دورگ‌های بین گونه‌ای صنوبر امید به افزایش تولید را در بهره‌برداران از این گونه‌ها افزایش داده‌است. چرا که افزایش تولید در دورگ‌ها و بروز برتری دورگ‌ها نسبت به‌والدین از نظر عملکرد، که در علم ژنتیک گیاهی هتروسیس نامیده می‌شود در بیشتر گونه‌های گیاهی از جمله صنوبر (۱۲) گزارش شده‌است. در درختان صنوبر که به‌صورت تجاری از طریق غیر جنسی تکثیر می‌شود استفاده از این پدیده سهولت زیادی را ایجاد کرده‌است و محققین علاوه‌بر استفاده از ظرفیت‌های درون گونه‌های صنوبر به‌فکر استفاده از ظرفیت‌های بین گونه‌ای (۵ و ۱۲) و بین جنسی (۱) هم افتاده‌اند. شاید بتوان گفت که در استفاده از دورگ‌گیری بین گونه‌ای به‌منظور انتقال ژن از یک گونه به‌گونه دیگر در گونه‌های درختی، صنوبر یکی از جنس‌های پیشتاز بوده است (۹).

از آنجا که صنوبرها اغلب از طریق قلمه و به‌صورت غیرجنسی تکثیر می‌شوند از نظر ژنتیکی نسل به‌نسل ثابت مانده و در مواردی با بروز بیماری‌های جدید گیاهی که در برخی موارد به‌صورت گسترده بروز می‌کنند (٤، ٦ و ۲۱) و با کاهش قابلیت‌هایی چون ظرفیت فتوسنتزی و تولید زیست‌توده، از ارزش تجاریشان کاسته می‌شود (١٤ و ۷). به‌همین دلیل تولید ژنوتیپ‌های جدید در صنوبرها و استفاده از روش‌های تکثیری که بتواند از میزان آلودگی‌های بیماریزای درونی آن‌ها بکاهد در دستور کار محققین داخلی و خارجی است (۱ و ۱۲). تولید دورگ‌های بین گونه‌ای از جمله تلاش محققین است که به‌تعدادی ژنوتیپ جدید منجر می‌شود و در بین آن‌ها باید بهترین ژنوتیپ‌ها را گزینش و به‌صورت غیر جنسی تکثیر کرد تا ضمن تثبیت ژنوتیپ مورد نظر، آن‌را به‌تعداد کافی تکثیر کرده و به‌کار گرفته شوند.

ژنوتیپ‌های جدید گونه‌های مختلف صنوبر به‌طرق مختلف تولید می‌شوند. در گونه‌هایی از صنوبر که اغلب از طریق غیر جنسی تولید مثل می‌کنند ژنوتیپ‌های جدید یا از طریق تولید مثل جنسی، (۲) و یا از تلاقی بین گونه‌ای و تولید دورگ‌های جدید (۵ و ۱۲) تولید می‌شوند. لازم به ذکر است که در این زمینه مطالعات وسیعی توسط جعفری مفیدآبادی و همکارانش (۱۱، ۱۲ و ۱۳) در کشور صورت گرفته که تاکنون به‌معرفی رقم جدید از صنوبر به نام مفید هم منجر شده است. در هریک از این روش‌ها معمولاً تعداد زیادی ژنوتیپ جدید تولید می‌شود که لزوما همهٔ آن‌ها از نظر تولید چوب و سایر خصوصیت‌های مطلوب نسبت به والدین اولیه برتری ندارند. از این رو اگرچه این ژنوتیپ‌ها از نظر بسیاری از صفت‌های مورفولوژیک و ریزمورفولوژیک تنوع گسترده‌ای دارند ولی باید در مطالعات مزرعه‌ای و آزمایشگاهی مورد مطالعه و مقایسه قرار گیرند تا ژنوتیپ‌های برتر انتخاب و به‌کار گرفته شوند (۱۰ و ۲۶). با به‌دست آمدن ژنوتیپ‌های جدید با عملکرد مطلوب در صنوبرها باید آن‌ها را به‌روش غیر جنسی تکثیر کرد تا ژنوتیپ آن‌ها تثبیت شود و نهال‌های تکثیری کاملاً شبیه ژنوتیپ اولیه باشند. از آنجا که در چنین مواردی مواد گیاهی به اندازه‌ای نیست که بتوان به‌وفور قلمه گرفت و از طریق قلمه‌زنی به‌تعداد کافی از رقم جدید نهال تولید کرد از روش‌های آزمایشگاهی درون شیشه‌ای استفاده می‌شود که هرکدام ویژگی‌های خاص خود را دارند. اول تکثیر از طریق ریزازدیادی با استفاده از جوانه‌های موجود بر روی بندهای شاخه نهال یا درخت هدف به‌همراه ۰/۵ تا ۱ سانتی‌متر از شاخه در بالا و پائین جوانه، دوم استفاده از جوانه‌های جانبی بدون نگه‌داشتن بخشی از شاخه و سوم استفاده از مریستم یا بخشی از جوانه انتهایی شاخه‌های در حال رشد می‌باشد.

در تکثیر اولیه ژنوتیپ‌های حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای، با هدف افزایش تعداد نهال، استفاده از جوانه‌های جانبی به‌همراه بخشی از شاخه (ریزازدیادی) مناسب‌ترین روش است. در تکثیر ژنوتیپ‌های خاص در گونه‌های جنگلی از جمله صنوبرها به‌دفعات از ریزازدیادی استفاده شده‌است (۸، ۲۵ و ۲٤) که در آن از جوانه‌های جانبی یا انتهایی مستقر بر روی شاخه‌های معمولاً جوان درختان برای تکثیر در شرایط آزمایشگاهی استفاده می‌شود. استفاده از روش‌هایی چون ریزازدیادی در گونه‌های جنگلی که به‌راحتی ازطریق قلمه یا پاجوش تکثیر می‌شوند همیشه مقرون به‌صرفه نیست و این روش فقط در مواردی استفاده می‌شود که گونه یا ژنوتیپ موردنظر به‌راحتی از طریق قلمه تکثیر نشود و یا دورگ یا ژنوتیپ موردنظر دارای اندام رویشی و قلمه کافی نباشد که بتوان از طریق قلمه به‌تعداد مناسب تکثیر کرد که در آن صورت با ریزازدیادی و کشت‌های مکرر درون شیشه‌ای به‌تعداد کافی نهال تولید می‌شود. تجربه‌های متعددی در تکثیر آزمایشگاهی مواد جدید ژنتیکی در صنوبرها وجود دارد. در تحقیقی که توسط میچلر و باور (۱۹۹۱) انجام شد، با استفاده از یک تیمار کوتاه مدت از اکسین، رویان‌زائی سوماتیکی زیادی از طریق کشت بافت حاصل از برگ و کشت سلول دورگی که از تلاقی دو گونه صنوبر *P. grandidentata* و *P. alba* به‌دست آمده بود حاصل شد که در نهایت به گیاهچه و نهال تبدیل شدند و با استفاده از شرایط گلخانه و سازگار کردن آن‌ها به‌طبیعت منتقل شدند (۱۵). با این حال این شیوه تکثیر رویشی گونه‌های جنگلی که به‌صورت درون‌شیشه‌ای انجام می‌شود همیشه با ایجاد تنوع سوماکلونال توأم بوده‌است که در بسیاری از موارد مطلوب نیستند و به ایجاد تنوع ژنتیکی ناخواسته و غیر یکنواختی در نهال‌های حاصل ختم می‌شود.

کشت مریستم و کشت جوانه انتهایی از جمله روش‌هایی است که در تکثیر رویشی گونه‌های جنگلی هم استفاده می‌شود و کمتر با مخاطراتی از نوعی که گفته شد مواجه هستند. به‌علاوه این‌که در این نوع کشت مزیت‌های دیگری هم وجود دارد که در سایر روش‌های تکثیر غیر جنسی وجود ندارد. به‌عبارت دیگر با کشت مریستم می‌توان گیاهانی تولید کرد که به‌دلیل عاری بودن از آلودگی می‌توانند سرعت رشد بهتری نسبت به نهال‌های تولیدی از سایر روش‌های تکثیر داشته باشند(۲۳). در مواردی سرعت رشد گیاهان حاصل از کشت مریستم به‌بیش از دو برابر رشد کلن اولیه رسیده‌است که دلیلی جز رفع آلودگی‌های درون‌زاد نداشته‌است. روتلج و داگلاس (۱۹۸۸) دوازده رقم تجاری صنوبر را به روش‌های کشت مریستم، کشت جوانه انتهایی و ریزازدیادی در شرایط درون شیشه‌ای کاشتند که به‌ترتیب ٤، ۳۲ و ۷۰ درصد موفقیت‌آمیز بود و به‌ترتیب ۱۲، ٦ و ٤ هفته هم به‌طول انجامید (۲۳).

این تحقیق با اهداف ذیل انجام گردید:

الف- تکثیر ژنوتیپ‌های دورگ با فنوتیپ برتر که از بین تعداد زیادی دورگ بین گونه‌ای انتخاب شده بودند،

ب- مقایسه دورگ‌ها در واکنش به تکثیر از طریق کشت مریستم، با استفاده از ویژگی‌های مختلف رویشی،

پ- مطالعه اثرهای متقابل ژنوتیپ و محیط کشت به‌منظور انتخاب ژنوتیپ‌هایی با قابلیت تکثیر رویشی بهتر،

ت- کاهش آلودگی‌های درون‌زاد از طریق کشت مریستم.

مواد و روش‌ها

با تولید تعدادی دورگ جدید بین گونه‌ای در صنوبرهای پده (به‌عنوان والد پدری) و کبوده (به‌عنوان والد مادری)، (*Populus alba x P. euphratica*) در مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، تعدادی از دورگ‌های حاصل از تلاقی‌ها برتری محسوسی نسبت به سایرین از خود نشان دادند و انتظار می‌رود با تکثیر آن‌ها به‌تعداد نهال موردنیاز برای مقایسه‌ها تا جای ممکن آلودگی‌های احتمالی درون‌زاد آن‌ها هم رفع شود انتخاب گردید. از این‌رو سه کلن از دورگ‌های برتر برای تکثیر از طریق کشت مریستم از جوانهٔ انتهایی مورد مطالعه قرار گرفتند. به‌این منظور سرشاخه‌های دورگ‌های موردنظر در اواخر فصل زمستان سال ۱۳۹٤ از نهالستان محل رویش و نگهداری برداشت شده و انتهای آن‌ها در آزمایشگاه در ظرف آبی که به‌خوبی هوادهی می‌شد قرار داده شدند. پس از مدتی در شرایط دمای محیط آزمایشگاه جوانه‌های رویشی آن‌ها شروع به رشد کردند. از شاخه‌های جوان در حال رشد که به‌تازگی ظاهر شدند برای برداشت جوانه انتهایی و مریستم استفاده شد. به‌منظور کشت مریستم دورگ‌های موردنظر ابتدا جوانه‌های فعال و در حال رویش از شاخه برداشت شده و پس از قطع برگ‌های جانبی مریستم‌ها، نمونه‌ها به‌مدت ۵ دقیقه در محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت‌سدیم قرار گرفتند. در ادامه نمونه‌ها سه‌بار با آب مقطر سترون شستشو شدند. به‌منظور کشت جوانه انتهایی، پس از سترون‌سازی، ۱ تا ۲ میلی‌متر از مریستم‌های انتهایی در حال رشد به‌وسیله اسکالپل جدا شده و بر روی محیط کشت قرار گرفتند. همه اعمال فوق‌الذکر در شرایط عاری از آلودگی و زیر لامینارفلو انجام شد.

از محیط کشت پایه MS[1] با نصف غلظت نیترات و ترکیب هورمونی IBA[2] به‌میزان ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر و هورمون BA[3] به‌میزان ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر برای کشت اولیه و استقرار مریستم‌ها استفاده شد (۱۷). در این کشت، از هر دورگ حداقل ۱۲ ویال شیشه‌ای به ارتفاع ۷ و قطر ۳ سانتی‌متر کشت شد. نمونه‌ها پس از کشت در اتاق رشد و در شرایط نوری ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شدند. دمای اتاق رشد در شرایط ۱±۲٤ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد. در بازکشت و پرآوری، از محیط کشت DKW[4] با ترکیب هورمونی ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP و از شیشه‌های کشت استفاده شد. شیشه‌های کشت به‌صورت مستمر بررسی شدند و آلودگی‌های احتمالی و نیز تغییرات مورفولوژیکی نمونه‌های کشت شده به‌صورت مشاهده‌ای گزارش شدند. همچنین درصد آلودگی حاصل از تیمار مورد استفاده در سترون‌سازی در ژنوتیپ‌ها و تکرارهای مختلف گزارش شدند.

در مرحله ریشه‌زائی از دو محیط کشت DKW بدون هیچ ترکیب هورمونی و ACM[5] به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA[6] استفاده شد. پس از سی روز نمونه‌هائی که به‌ریشه رفتند مورد مطالعه قرار گرفته و صفاتی چون شادابی، میزان ریشه‌دهی، میانگین طول شاخه‌ها گزارش و تجزیه و تحلیل شدند. در گزارش ویژگی‌های شادابی و ریشه‌زایی از درجه‌بندی استفاده شد به نحوی که به‌شاخه‌هایی که بیشترین ریشه را تولید کردند عدد ۵ و به‌شاخه‌هایی که کمترین ریشه را تولید کردند عدد ۱ داده شد و به بقیه شاخه‌ها نیز به تناسب مقدار ریشه، اعداد بینابینی داده شد. به همین‌ترتیب به نمونه‌های بسیار شاداب عدد ۵ و به نمونه‌های با کمترین شادابی عدد ۱ داده شد و بقیه نمونه‌ها هم به تناسب شادابیشان اعداد بینابینی داده شد. داده‌های حاصل توسط نرم‌افزار SAS تجزیه و تحلیل شده و تفاوت‌های مشاهده شده در بین ژنوتیپ‌های مختلف از نظر قابلیت‌های مختلف از جمله ریشه‌زائی در محیط نرم‌افزار اکسل به نمودار تبدیل شدند.

نتایج و بحث

با توجه به ظرافت نمونه‌های مورد استفاده در کشت جوانه انتهایی استفاده از محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم برای ضد عفونی نمونه‌ها روش مناسبی تشخیص داده شد و میزان آلودگی‌ها در کشت جوانه‌های انتهایی دورگ‌ها در محیط MS با نصف مقادیر نیترات، برای استقرار قابل قبول بود. به‌طوری‌که در کشت‌های مربوط به هیبریدهای شماره ۱ تا ۳ میزان آلودگی‌ها به‌ترتیب برابر بود با ۷، ۰ و ۲۳ درصد. لازم به‌ذکر است که به‌دلیل فعال‌بودن مریستم‌های فعال در این شیوهٔ تکثیر و حساسیت زیاد آن‌ها به‌مواد سترون‌کننده، استفاده از دوره‌های طولانی‌تر سترون‌سازی به‌مریستم‌ها لطمه وارد کرده و ممکن است در هیچ محیط کشتی رشد لازم را نداشته باشند. در مرحله کشت مریستم بر روی محیط کشت، تشکیل کالوس نیز در برخی از ویال‌ها مشاهده شد (شکل ۱). با این حال درصد زیادی از نمونه‌های کشت شده شروع به‌رشد کرده و به گیاهچه کامل و قابل تکثیر تبدیل شدند. نمونه‌هایی از گیاهچه‌های تشکیل شده از کشت مریستم و جوانه انتهایی در شکل ۲ ارائه شده‌است. در مرحله پرآوری دورگ‌ها از نظر طول شاخه و میزان ریشه‌دهی اختلاف معنی‌داری از خود نشان دادند (جدول ۱). کشت مریستم و

1- Murashige and Skooge
2- Indole-3-Butyric Acid
3- Benzyladenine
4- Driver and Kuniyuki Walnut
5- Aspen Culture Medium
6- Naphthaleneacetic Acid

جوانه‌های انتهایی ابزاری مفید در تکثیر ژنوتیپ‌های مطلوبی است که یا از طریق دورگ‌گیری و یا از روش‌های دیگر اصلاحی حاصل شده‌اند. ضمن این‌که از این روش‌ها برای نگهداری و حفاظت از برخی مواد گیاهی و ژنوتیپ‌ها یا کلن‌های ویژه هم استفاده می‌شود. از این رو با توجه به قابلیت‌هایی که در استفاده از کشت جوانه‌های انتهایی صنوبر وجود دارد توجه به تفاوت‌های احتمالی در پاسخ گونه‌های متفاوت صنوبر و دورگ‌های آن‌ها که هم از نظر تاکسونومیکی و هم از نظر تنوع ژنتیکی با یکدیگر اختلاف گسترده‌ای دارند دست‌یابی به‌یک روش کشت مطمئن برای تکثیر رویشی آن‌ها موردنظر این پژوهش بود. با توجه به تفاوت‌هایی که بین دورگ‌های مورد مطالعه در این تحقیق از نظر تولید جوانه‌های فعال برای برداشت مریستم و جوانه‌های انتهایی در بدو امر مشاهده شد انتظار می‌رفت که از نظر پاسخ به‌یک محیط کشت تفاوت‌های کمی و کیفی زیادی از خود نشان دهند. لازم به‌ذکر است که با قرار دادن سرشاخه‌های کلن‌های مورد مطالعه در آب برای تولید جوانه‌های فعال رویشی، جوانه‌ها در سه دورگ مورد مطالعه با کمی اختلاف از نظر سرعت رشد ظاهر شدند. این تفاوت در واکنش آن‌ها به محیط کشت درون‌شیشه‌ای و نیز ویژگی‌های مورد مطالعه در تکثیر هم به‌نوعی قابل مشاهده بود. البته از سایر روش‌های موجود تکثیر غیرجنسی درون‌شیشه‌ای هم می‌توان در تکثیر دورگ‌های برتر حاصل از تلاقی بین گونه‌ای استفاده کرد ولی هر کدام از آن‌ها ممکن است محدودیت‌ها و مخاطرات خاص خود را داشته باشند. به‌عنوان مثال از تولید کالوس از بافت‌های مختلف دورگ‌ها و تولید جنین‌های رویشی از کالوس و در نهایت تولید نهال هم می‌توان به تکثیر این‌گونه دورگ‌ها اقدام کرد ولی تغییرات ژنتیکی موسوم به تنوع سوماکلونال که در فرایند این روش تکثیر ایجاد می‌شود می‌تواند تنوع ناخواسته‌ای در بین نهال‌های تولیدی ایجاد کند که ضمن ایجاد ناهمگنی زیاد در ویژگی‌های مورفولوژیک از جمله تنوع در ارتفاع نهال، تعداد شاخه‌ها، زاویه شاخه‌ها و ابعاد برگ درخت، به پس‌روی ژنتیکی برخی از پایه‌ها هم منجر شود. اگر چه از این تنوع در مواردی صفت‌های مطلوب هم حاصل شده‌است که از دیرباز در برنامه‌های اصلاحی صنوبرها مورد استفاده قرار گرفته‌اند (۱۵ و ۱۸).

در استفاده از محیط کشت مصنوعی در کشت درون‌شیشه‌ای صنوبرها، انواع متفاوتی از محیط‌های کشت با نام‌های اختصاری MS، WPM، ACM، WS و GD معرفی شده‌اند که گونه‌های مختلف صنوبر واکنش‌های متفاوتی به آن‌ها نشان داده‌اند (۸، ۱٦ و ۲٤). هنوز هم شاید نتوان گزارشی مشاهده کرد که در آن محیط کشتی ارائه شده باشد که بتوان طیف وسیعی از گونه‌ها و کلن‌های صنوبر را در آن کشت درون‌شیشه‌ای کرد. با این حال انتخاب محیط کشت DKW برای تکثیر و پرآوری در این تحقیق بر اساس تجربیات گذشته در تکثیر درون‌شیشه‌ای صنوبر صورت گرفت (۸ و ۲۵). محیط کشت MS و ترکیب هورمونی مورد استفاده در مرحله استقرار اولیه در این پژوهش هم به‌نحو شایسته‌ای پاسخگو بود. در مرحله تکثیر و پرآوری هم دورگ‌ها واکنش‌های مختلف و معنی‌داری از نظر صفت‌های ریشه‌زائی و طول شاخه از خود نشان دادند ولی از نظر شادابی نمونه‌ها، اگرچه ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تا اندازه‌ای نسبت به محیط کشت مورد استفاده واکنش‌های متفاوتی نشان دادند ولی این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. از نظر تفاوت بین ژنوتیپ‌های مختلف در واکنش به تکثیر آزمایشگاهی در مطالعات میترویچ و همکاران (۲۰۱۰) هم اختلاف معنی‌داری از نظر طول شاخه‌های تولیدی در محیط کشت و تعداد شاخه‌های تولیدی از خود

نشان دادند (١٦). به‌طوری‌که دو کلن مورد مطالعه آن‌ها از نظر طول شاخه‌ها، میانگینی برابر با ٣٩/٩ و ٢٦/١ میلی‌متر داشتند و میانگین تعداد شاخه‌ها نیز در یکی ٥/٤ و در دیگری ٢/٧ شاخه بود. درصد ریشه‌زائی در تحقیق مذکور ١٠٠ بود ولی میزان توفیق در سازگاری با شرایط محیطی بین ٧٠ تا ٨٠ درصد متغیر بود. لازم به تأکید است که عوامل متعددی نظیر محیط کشت پایه و ترکیبات آن‌ها و هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد مورد استفاده و سایر تیمارهای محیطی از جمله دمای محیط و شرایط نوری اتاق رشد هم در میزان توفیق در کشت مریستم و جوانه انتهایی مؤثرند و هم اثر متقابل زیادی با ژنوتیپ‌ها و کلن‌های مختلف در گونه‌های گیاهی از جمله درختان جنگلی از خود نشان داده‌اند. اثر هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد گیاهی در بین عوامل فوق از اهمیت زیادی برخوردار است. به‌طوری‌که اگر میزان نامناسبی از یک هورمون تنظیم‌کننده رشد در محیط کشتی استفاده شود ممکن است به‌رشد غیر طبیعی نمونه‌ها و ساختارهای نامناسب از جمله تشکیل کالوس به‌جای شاخساره منجر شود. به‌همین منظور در شرایطی که تکثیر رویشی یک کلن ویژه تجاری از صنوبر یا هر گونه جنگلی دیگری در دستور کار قرار گرفت می‌توان به‌دنبال یک محیط کشت اختصاصی آن کلن یا ژنوتیپ بود تا درصد موفقیت و تولید نهال در سطح قابل توجهی افزایش یابد. این تحقیق هم تا اندازه‌ای اثرهای متقابل ژنوتیپ و محیط را در شرایط کشت درون شیشه‌ای نشان داد که از نظر آماری معنی‌دار نشدند (شکل ٣).

شکل ١- تشکیل کالوس در کشت برخی از مریستم‌های حاصل از دورگ‌های بین گونه‌ای صنوبر پده و کبوده.

Figure 1- Callus formation on a number of meristem culture of inter-specific hybrids between *Populus alba* L. and *P. euphratica* Oliv.

شکل ٢- گیاهچه‌های تشکیل شده از کشت مریستم حاصل از دورگ‌های بین گونه‌ای صنوبر پده و کبوده

Figure 2. Samples of plantlets initiation from meristem culture of inter-specific hybrids between Populus *alba* L. and *P. euphratica* Oliv.

جدول ۱- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از صفت‌های شادابی، طول شاخه و قدرت ریشه‌زائی در کشت مریستم سه دورگ بین گونه‌ای صنوبر در مرحله پرآوری با استفاده از محیط کشت DKW.

Table 1. Mean squares of analysis of variance on the data collected on freshness, shoot length, and rooting ability in meristem culture of three inter-specific poplar hybrids at proliferation stage, using DKW medium.

منابع تغییر S.O.V.	درجه‌آزادی DF	شادابی Freshness	طول شاخه Shoot length	ریشه‌زایی Rooting
دورگ	2	0.15^{ns}	5.8^{**}	1.68^{**}
خطا	9	0.21	0.41	0.02

** اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد، ns= بدون اختلاف معنی‌دار.

در کشت مریستم انتهایی کالوس زیادی تشکیل می‌شود که می‌توانند به‌سمت تشکیل رویان و گیاهچه و در نهایت نهال هدایت شوند. در این صورت احتمال ایجاد جهش‌های طبیعی زیاد خواهد بود. از تنوع سوماکلونال می‌توان در اصلاح گونه‌های درختی استفاده کرد. تاکنون از این نوع تنوع به‌عنوان تغییرات ژنتیکی تصادفی یاد شده‌است که بیشتر آن‌ها نامطلوب یا خنثی هستند ولی درصد کمی از این ژنوتیپ‌ها حاصل از جهش‌های سوماتیکی مطلوب هم هستند که باید تشخیص داده شده و استفاده شوند. ولی در آینده همین تغییرات را باید بتوان به‌سمت دلخواه هدایت کرد تا ژنوتیپ‌هایی با ویژگی‌های موردنظر از جمله مقاومت به آفات و امراض گیاهی به‌دست آورد. لازم به‌ذکر است که بسیاری از گونه‌های صنوبر از نظر واکنش به محیط کشت در تشکیل کالوس و حتی تشکیل جنین‌های رویانی به‌خوبی پاسخ می‌دهند. به‌طوری‌که برخی از محققین از این ویژگی در مطالعات جانبی صنوبر نیز بهره گرفته‌اند. به‌عنوان نمونه میچلر و باور (۱۹۹۱) در تولید جنین رویانی فراوان از برگ گونه‌هایی از صنوبر استفاده کردند (۱۵). در سال‌های گذشته با استفاده از سوسپانسیون سلولی حاصل از کشت بافت، گونه‌هایی از صنوبر به تولید تنوع ژنتیکی جدید (جعفری مفیدآبادی و جورابچی، ۲۰۰۱) و نیز فراهم کردن شرایط انتقال ژن از طریق تفنگ ژنی اقدام شده است. با این حال در کشت مریستم و جوانه‌های انتهایی کلن‌های مورد مطالعه در این تحقیق نیز علاوه‌بر مشاهده کالوس، بدفرمی‌های مختصری در شاخسارهای تولیدی مشاهده شد که می‌تواند ناشی از ایجاد موتانت‌های جدید در شرایط کشت در شیشه باشد. نهال‌های حاصل از این تحقیق باید پس از تکثیر رویشی و رساندن نهال‌ها به‌تعداد موردنیاز در آزمایش‌های مقایسه‌ای با سایر کلن‌های تجاری و نیز کلن‌های اولیه و والدینی مورد مقایسه و ارزیابی قرار گیرند تا اثر تولید نهال از این طریق تکثیر که انتظار می‌رود نهال‌های حاصل را عاری از آلودگی‌های درون‌زاد کرده باشد در مزرعه و تولید در شرایط طبیعی ارزیابی شود. بدیهی است که ادامه مطالعه در کشت مریستم سایر کلن‌های تجاری صنوبر در کشور از ضرورت‌ها است. چرا که به‌نظر می‌رسد با تکثیر رویشی این ارقام طی سالیان دراز این کلن‌ها حامل عوامل بیماریزای باکتریایی و ویروسی متعدد باشد که منجر به کاهش محصول می‌گردند. از این رو با استفاده از این روش‌ها می‌توان در تولید کلن‌های عاری از آلودگی و افزایش محصول مواد سلولزی در کشور مؤثر بود.

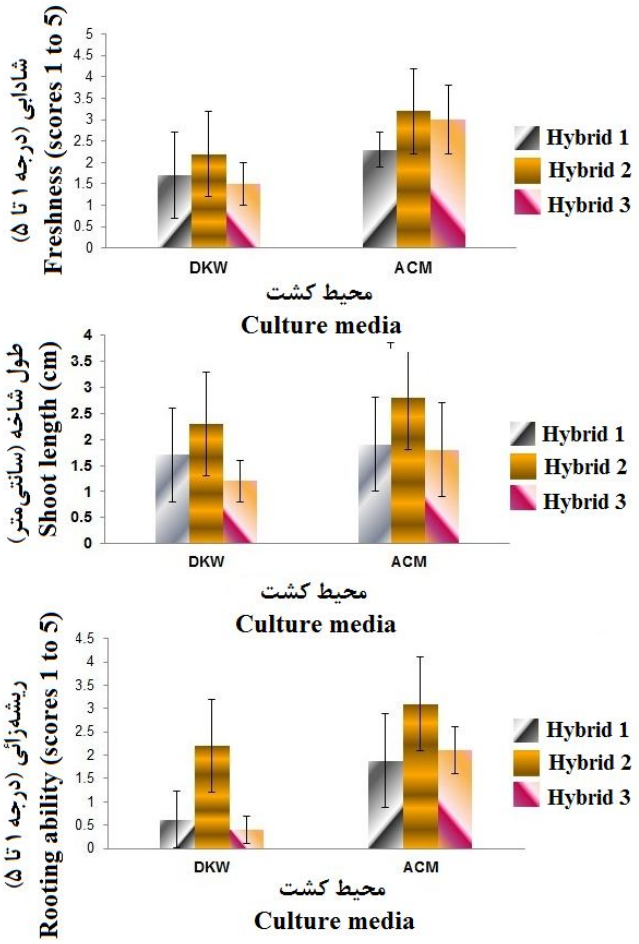
در مرحله ریشه‌زایی دورگ‌ها از نظر شادابی تفاوت معنی‌داری از خود نشان ندادند ولی از نظر طول شاخه و ریشه‌زایی در سطح معنی‌داری با هم اختلاف داشتند. محیط کشت‌های مورد استفاده نیز بر شادابی و میزان ریشه‌زایی اثرهای متفاوتی گذاشتند (جدول ۲). اثر متقابل دورگ‌ها بر محیط کشت در هیچ‌یک از صفت‌ها معنی‌دار نشد.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس داده‌های به‌دست آمده از صفت‌های شادابی، طول شاخه و قدرت ریشه‌زایی در کشت مریستم سه دورگ بین گونه‌ای صنوبر در مرحله ریشه‌زایی با استفاده از دو محیط کشت DKW و ACM.

Table 2. Mean squares of analysis of variance on the data collected on freshness, shoot length, and rooting ability in meristem culture of three inter-specific poplar hybrids at rooting stage, using DKW and ACM media.

منابع تغییر S.O.V.	درجه‌آزادی DF	شادابی Freshness	طول شاخه Shoot length	ریشه‌زایی Rooting
دورگ Hybrid	2	2.12^{ns}	5.7^{**}	11.5^{**}
محیط کشت Culture medium	1	13.8^{**}	2.7^{ns}	22.1^{**}
دورگ * محیط کشت Hybrid*Culture medium	2	0.83^{ns}	0.3^{ns}	0.95^{NS}
خطا Error	48	1.7	1.3	1.9

** اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد، ns= بدون اختلاف معنی‌دار.



شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ و محیط‌های کشت بر صفت‌های شادابی، طول شاخه و میزان ریشه‌زایی در دورگ‌های بین‌گونه‌ای صنوبر در مرحله ریشه‌زایی در کشت مریستم.

Figure 3. Interaction effects of genotype and culture media on freshness shoot length, and rooting ability of three poplar inter-specific hybrids at rooting stage of meristem culture.

جدول ۳- مقایسه میانگین دورگ‌های صنوبر بر اساس صفت‌های شادابی، طول شاخه و قدرت ریشه‌زایی در سه دورگ بین گونه‌ای صنوبر در مرحله ریشه‌زایی از کشت جوانه انتهایی.

Table 3. Poplar hybrids mean classification based on freshness, shoot length, and rooting ability of three poplar inter-specific hybrids at rooting stage of meristem culture, using Duncan method.

ریشه‌زایی Rooting (scores 1-5)	طول شاخه Shoot length (cm)	شادابی Freshness (scores 1-5)	دورگ‌ها Hybrids
1.3 b	1.8 b	2.0 a	دورگ ۱ Hybrid 1
2.6.a	2.6 a	2.7 a	دورگ ۲ Hybrid 2
1.3 b	1.5 b	2.3 a	دورگ ۳ Hybrid 3

حروف الفبای متفاوت در ستون‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها است.

با توجه به معنی‌دار شدن صفت‌های طول شاخه و میزان ریشه‌زایی در مرحله ریشه‌زایی، دورگ‌های مورد بررسی از نظر این صفت‌ها دسته‌بندی شدند (جدول ۳). در هر دو صفت، دورگ دوم در یک دسته و دورگ‌های ۱ و ۳ در دسته دوم قرار گرفتند. با توجه به صفت‌های شادابی و ریشه‌زایی محیط کشت‌های مورد استفاده هم در دو دسته متفاوت قرار گرفتند (جدول ٤).

با رشد مریستم و تشکیل یک شاخساره انفرادی در مواردی که مریستم‌ها موفق به‌رشد کافی شدند تکثیر درون شیشه‌ای آن‌ها مرحله‌ای است که منجر به تکثیر به‌تعداد موردنظر از کلن مطلوب خواهد شد. در چنین شرایطی تغییر محیط کشت نیز می‌تواند انجام شود. چرا که تکثیر یک شاخساره درختان جنگلی به‌عوامل درونی مشخص از جمله تنظیم‌کننده‌های رشدی چون سیتوکینین‌ها وابستگی بسیار زیادی دارد. در این مرحله بیشتر دستورالعمل‌های آزمایشگاهی پیشنهادی توسط سایر محققین، توصیه به استفاده از برخی از سایتوکینین‌ها کرده‌اند (۲۰). در برخی از شرایط محیط کشتی، پانیزا و همکارانش (۱۹۹۳) بر این اعتقادند که گاز اتیلن تولیدی توسط گیاه ممکن است به امر تولید شاخساره‌های جدید کمک کند (۱۹). به همین‌دلیل در مواردی توصیه شده‌است که به‌شرط عدم تبادل هوای داخل ظروف کشت با فضای بیرونی، از محیط کشت‌های پایه بدون تنظیم‌کننده‌های رشد هم می‌توان شاخساره‌های گیاهانی نظیر صنوبر را تکثیر کرد (۲۷). چون در چنین شرایطی است که گاز اتیلن تولیدی توسط بافت‌های گیاهی درون شیشه در درون ظرف محبوس شده و به امر تکثیر کمک می‌کند.

جدول ٤- دسته‌بندی میانگین‌های محیط‌های کشت استفاده شده بر اساس صفت‌های شادابی، طول شاخه و قدرت ریشه‌زایی در سه دورگ بین گونه‌ای صنوبر در مرحله ریشه‌زایی از کشت جوانه انتهایی، با استفاده از روش دانکن.

Table 4. Culturing media mean classification based on freshness, shoot length, and rooting ability of three poplar inter-specific hybrids at rooting stage of meristem culture, using Duncan method.

ریشه‌زایی Rooting (scores 1-5)	طول شاخه Shoot length (cm)	شادابی Freshness (scores 1-5)	محیط کشت Culturing media
2.4 a	1.7 a	1.8 b	DKW
1.3 b	2.2 a	2.8 a	ACM

حروف الفبای متفاوت در ستون‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌هاست.

اثر متقابل دورگ‌ها و محیط‌های کشت هم در شکل ۳ ارائه شده‌است. لازم به‌توضیح است که اگرچه اثرهای متقابل در جدول تجزیه واریانس معنی‌دار نشدند ولی با توجه به روند تغییرات میانگین‌ها توجه به این اثرها می‌تواند راهگشا باشد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی می‌توان گفت که دورگ‌های مورد مطالعه در این تحقیق از جهت ویژگی‌های اساسی از جمله قدرت ریشه‌زایی و نیز طول شاخساره‌های تولیدی با هم اختلاف زیادی داشتند. تفاوت در قدرت ریشه‌زایی به میزان زیادی تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است که به‌خوبی در فرایند تکثیر رویشی از طرق آزمایشگاهی از جمله کشت جوانه انتهایی و مریستم قابل ارزیابی و مقایسه می‌باشد. این تفاوت‌ها ممکن است در فرایند تکثیر رویشی در مزرعه و در سطح تجاری تعیین‌کننده باشند. از این رو توصیه می‌شود در ادامه مطالعه‌های میدانی، این دورگ‌ها از نظر قابلیت‌های مزبور نیز مقایسه شوند.

سپاسگزاری

در اجرای این تحقیق از همراهی محققین و همکاران زیادی از گروه زیست‌فنآوری از مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور بهره‌مند شدیم که لازم می‌دانیم از همه آن‌ها تشکر و قدردانی کنیم. به‌ویژه از سرکار خانم مهندس صداقتی که بی‌دریغ ما را در انجام این تحقیق یاری کردند و نیز سرکار خانم مهندس میرجانی مسئول آزمایشگاه کشت بافت به‌جهت فراهم‌کردن همهٔ امکانات موردنیاز و سرکار خانم مهرآبادی به‌دلیل تلاش و همراهی در تأمین نیازهای این تحقیق، نهایت تشکر را داریم. همین‌طور از آقای دکتر حسام‌زاده رئیس محترم گروه زیست‌فن‌آوری مؤسسه مذکور که سخاوتمندانه امکانات موردنیاز در انجام این تحقیق را در اختیار گذاشتند کمال تشکر را داریم.

منابع

1. Ahmadi, A., Azadfar and D., and Jafari Mofidabadi, A. 2009. Embryo culture as a tool in intergeneric hybridization of Salicaceae (*Salix alba* X *Populus caspica*). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 16: 149-157. (In Persian)
2. Asadi, F., Mirzaie-Nodoushan, H., Modir-Rahmati, A.R., and Naderishahab, M.A. 2005. Identification of poplar clones using morphological markers. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 12: 267-300. (In Persian)
3. Calagari, M., Jalili, A., Abbas Azimi, R., and Salehi Shanjani, P. 2014. Environmental effects on leaf morphology traits in the *populus euphratica* Oliv. Provenances of Iran, Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 22: 369-380. (In Persian)
4. Cao, Z.M., Du, L., Wang, Q.H., and Yu, Z.D. 2012. Genetic diversity of poplar rust fungus *Melampsora larici-populina* in China. Mycosystema, 31: 510-522.
5. Chauhan, N., Negi, M.S., Sabharwal, V., Khurana, D.K., and Lakshmikumaran, M. 2004. Screening inter-specific hybrids of *Populus* (*P. ciliate* * *maximowiczii*) using markers. Theoretical and Applied Genetics, 108: 951-957.
6. Cheema, G.S. 1989. Somatic embryogenesis and plant regeneration from cell suspension and tissue culture of mature Himalayan poplar *(Populus ciliata)*. Plant Cell Report, 8: 124-127.
7. Covarelli, L., Beccari, G., Tosi, L., and Fabre, B. 2013. Three-year investigations on leaf rust of poplar cultivated for biomass production in Umbria, Central Italy. Biomass Bioenergy, 49: 315-322.
8. Emam, M., and Shahrzad, Sh. 2001. Micropropagation of white pellets (*Populus caspica*). Journal of Research and Development in Natural Resources. 53: 84-90.

9. Hall, R.B., Hilton, G.D., and Maynard, C.A. 1982. Construction lumber from hybrid aspen plantations in the Central States. Journal of Forestry, 80: 291-294.
10. Homaie, M., Mirzaie-Nodoushan, H., Asadicorom, F., Bakhshi-Khaniki, Gh.R., and Calagari, M. 2014. Evaluation of half-sib progenies and their parents of *Populus euphratica* based on their morphologic and micro-morphologic traits. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 21: 768-779. (In Persian)
11. Jafari Mofidabadi, A., and Joorabchi, E. 2001. Evaluation of genetic variation in new somaclonal genotypes of *Populus euphratica*. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 7: 27-40. (In Persian)
12. Jafari Mofidabadi, A. 2015. Production of inter-specific hybrid between *Populus caspica* and *P.nigra* using mature embryo culture. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 23: 49-55. (In Persian)
13. Jafari Mofidabadi, A., and Modir-Rahmati, A.R. 2000. Production of *Populus euphratica* Oliv. x *P. alba* L. hybrid poplars through ovary and ovule cultures. Plant Genetic Resources Newsletter, 122: 13-15.
14. Major, I.T., Nicole, M.C., Duplessis, S., and Seguin, A. 2010. Photosynthetic and respiratory changes in leaves of poplar elicited by rust infection. Photosynth. Res. 104: 41-48.
15. Michler, C.H., and Bauer, E.O. 1991. High frequency somatic embryogenesis from leaf tissue of *Populus* spp. Plant Science, 77: 111-118.
16. Mitrovic, A., Bogdanovic-Pristov, J., and Marjanovic, Z. 2010. A rapid protocol for in vitro propagation of white poplar (*Populus* alba L.). International Scientific Conference Forest Ecosystems and Climate Changes, 9-10 Mar 2010, Belgrade (Serbia)
17. Murashige, T., and Skooge, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio- assays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15: 473-597.
18. Ostry, M.E., and Skilling, D.D. 1987. Somaclonal variation in hybrid poplars for resistance to Septoria leaf spot, Pp: 89-100. In: (ed. Tuskan G.A.,) Proc. North Central Tree Improvement Conf., Fargo, N.D.
19. Panizza, M., Mensuali-Sodi, A., and Tognoni, F. 1993. Role of ethylene in axillary shoot proliferation of lavandin– interaction with benzyladenine and polyamines. Journal of Experimental Botany, 44: 387–394.
20. Peternel, S., Gabrovšek, K., Gogala, N., and Regvar, M. 2009. *In vitro* propagation of European aspen (*Populus tremula* L.) from axillary buds via organogenesis. *Sci. Hortic.*, 121: 109–112.
21. Pinon, J., and Frey, P. 2005. Interactions between poplar clones and *Melampsora* populations and their implications for breeding for durable resistance. In: Rust Diseases of Willow and Poplar (Pei, M.H., and McCracken, A.R., eds.). CAB International, Wallingford, 139-154.
22. Rubin, E.M. 2008. Genomics of cellulosic biofuels. Nature, 454: 841-845.
23. Rutledge, C.B., and Douglas, G.C. 1988. Culture of meristem tips and micropropagation of 12 commercial clones of poplar *in vitro*. Physiologia Plantarum, 72: 367-373.
24. Shtereva, L., Vassilevska-Ivanova, R., Karceva, T., and Kraptchev, B. 2014. Micropropagation of six *Paulownia* genotypes through tissue culture. Journal of Central European Agriculture, 15: 147-156.
25. Tavassoli Asgari, S., Ghamari Zare, A., Shahrzad, Sh., Khosroshahli M., and Sedaghati, M. 2012. Micropropagation of Iranian *Populus alba* species. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20: 253-260. (In Persian)
26. Tavousi Rad, F., Ghamari Zare, A., Mirzaie-Nodoushan, H., and Usefifard, M. 2016. Evaluation of poplar inter-specific progenies based on their morphologic and micro-morphologic traits. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 24: 675-686. (In Persian)
27. Ziauka, J., and Kuusiene, S. 2014. Multiplication and growth of hybrid poplar (*Populus alba* × *P. tremula*) shots on a hormone-free medium. Acta Biologica Hungarica, 65: 346-354.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
J. of Wood & Forest Science and Technology, Vol. 24 (2), 2017
http://jwfst.gau.ac.ir

Investigation of rooting ability of poplar interspecific hybrids (*Populus alba x P. euphratica*) through apical meristem culture

***H. Mirzaie-Nodoushan[1], S. Khosravan[2], A. Ghamari Zare[3] and M.A. Ebrahimi[4]**
[1]Professor, of Plant Breeding, Forests and Rangelands Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran, [2]M.Sc. in Plant Biotechnology, Payam Noor University, Tehran, Iran, [3]Associate Prof., of Plant Breeding, Forests and Rangelands Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran, [4]Associate Prof., of Plant Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran
Received: 09/19/2016; Accepted: 06/22/2017

Abstract

Background and objectives: Much attention being paid on silviculture of different Populus species and their inter-specific hybrids have increased hopes for wood yield increments in Iran. For the mentioned reason much efforts have been done on hybridization between various Populus species in order to broaden their genetic basis, as well as utilizing their entire potentials and extending their ecologic zones. However, experiences of researchers have shown that produced hybrids have increased new genetic variability, as well as differences with their parental species, by which new high yielding cultivars were introduced. This research was performed in order to quantify possible differences between new inter-specific hybrids between *Populus alba* as female parent and *P. euphratica* as the male parent based on their rooting capability to be introduced as criteria for selecting new high yielding poplar genotypes.

Materials and methods: Producing a number of inter-specific hybrids between two poplar species, *Populus euphratica* and *P. alba*, vegetative propagation of three of the best hybrids through apical meristem culture was performed. First active vegetative buds were harvested and surface sterilized by dipping in 20% sodium hypochlorite for five minutes. Then one to two mm of the apical tips was inoculated on half-MS medium containing IBA and BA of 0.01 and 0.5 mg/l respectively. The explants were maintained in growth chamber at 24 ±1°C and 16/8 hr photoperiod for 60 days. DKW containing 0.5 mg/l of BAP, 0.5 mg/l of 2iP and 0.5 mg/l IBA was used as the proliferation medium. Propagated shoots were inoculated on two rooting media, DKW and ACM. Data were recorded on characteristics such as freshness, number and length of shoots and roots on rooted plantlets and analyzed based on a factorial experimental model.

Results: The studied hybrids were significantly different based on freshness, stem length and rooting ability, in such a way that one of the hybrids even highly rooted at proliferation stage. The hybrid was strongly different with others studied hybrids at rooting stage by producing much more roots than others as well as producing longer shoots.

Conclusion: The studied hybrids differentiated significantly by meristem culture based on vegetative characteristics such as rooting ability and shoot length. Superior hybrids with specific rooting ability may be selected based on the observed differences between the studied genotypes.

Keywords: Apical meristem culture, Inter-specific hybrid, *Populus alba*, *Populus euphratica*, Rooting ability

*Corresponding author: nodoushan2003@yahoo.com