تاثیر محیط کشت، هورمون و ژنوتیپ بر ریزازدیادی سفیدپلت (*Populus caspica*)

میترا امام[۱]، احمد مجد[۲]، معصومه ایزدپناه[۱]، علی جعفری مفیدآبادی[۱]

چکیده

به منظور انجام این پژوهش، سرشاخه‌های دارای جوانه از پایه‌های متعلق به رویشگاههای متفاوت سفیدپلت (۴ ژنوتیپ مختلف) جمع آوری، سترون و در محیط کشتهای ACM، MS و WPM در غلظتهای متفاوت از هورمون BA (۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم برلیتر) مستقر گردیدند.

تفاوتهای قابل مشاهده در ضریب ازدیاد، رشد طولی و سبزینگی شاخه ها در اثراین تیمارها، با انجام مقایسات آماری مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل نشانگر آن است که بهترین روش استریل بسته به فصل، محل برداشت و اندازه جوانه ها، عبارت از کاربرد محلول کلرورمرکوریک ۰/۱ درصد برای ۲ تا ۶ دقیقه بدنبال شستشوی نمونه‌ها با محلول الکلی ۷۰ درصد در زمان ۳۰ثانیه بود. مناسب‌ترین محیط کشت برای شاخه‌زایی ژنوتیپهای مختلف گونه مزبور عبارت از محیط MS با ۱/۲ غلظت نیترات و ۰/۵ میلی‌گرم برلیتر از BA بود. در محیط کشت مزبور، در عین حفظ سبزینگی شاخه‌ها، از بروز ناهنجاریهای ریختی در آنها (از قبیل شیشه‌ای شدن و یا پژمردگی سرشاخه‌ها) نیز جلوگیری به عمل آمد. بالاترین درصد شاخه‌زایی و رشد طولی شاخه، در این شرایط برای ریزنمونه های ژنوتیپ ۳، حاصل گشت. ریشه‌زایی نمونه ها در محیط MS و در غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر IBA بدست آمد و سازگاری این گیاهان با شرایط طبیعی محیط نیز با موفقیت صورت پذیرفت.

کلید واژه‌ها

ریزازدیادی (Micropropagation) کشت سر شاخه‌ای (Shoot tip culture) سفید پلت (*Populus caspica*)

۱- اعضاء هیئت علمی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع

۲- عضو هیأت علمی دانشگاه تربیت معلم

مقدمه

سفید پلت گونه بومی ایران بوده و در تمام مناطق شمالی کشور به صورت طبیعی تا ارتفاع ۱۴۰۰ متر بالاتراز سطح دریا گسترش داشته و جوامع طبیعی آن بر خاکهای غنی و آبرفتی بصورت خالص یافت می‌شود. صنوبرها درختانی سریع الرشد بوده و از چوب آنها برای اهداف صنعتی نظیر کبریت سازی، کاغذ، جعبه سازی و... در تمام جهان استفاده می‌گردد.این گیاهان، گونه های پیشتاز برای مناطق جدید بوده و از پتانسیل غنی برای چرخه های کوتاه کشت، همچنین از سرعت بالای رشد و توانایی زیست در مناطق مختلف اکولوژیکی برخوردارند (۴ و ۶).

هرچند صنوبرها توانایی تکثیر با روشهای غیرجنسی مختلف نظیر قلمه، ریشه جوش و پیوند را دارا هستند ولی تولید انبوه ژنوتیپهای ویژه آنها در سطح تجارتی از طریق روشهای فوق بخصوص در مورد گیاهان بالغ، مشکل می‌باشد(۴).با کاربرد روشهای کشت بافت و اندام، تکثیر سریع ژنوتیپهای برگزیده صنوبر در سطح انبوه ممکن خواهد شد. اهداف این بررسی عبارتند از :

۱ - تعیین بهترین محیط کشت به همراه مناسب‌ترین غلظت هورمونی قابل تعمیم برای تکثیر نمونه های سفیدپلت متعلق به رویشگاههای متفاوت .

۲ - تشخیص روش بهینه تکثیر شاخه هابا حفظ وضعیت مطلوب نمونه هاازنظر شاخه‌زایی و رشد طولی، سبزینگی شاخه هاو عدم بروز ناهنجاریهای ریختی در آنها مثل شیشه‌ای شدن، زردی و پژمردگی.

سابقه تحقیق

در مورد گونه های صنوبر، پژوهشهایی در زمینه استریل بافتهای صنوبر، کشت کالوس و کشت اندام آن صورت پذیرفته است .

Ahuja (۱۹۸۲) بافتهای ساقه، جوانه، برگ و ریشه *Aspen (P. tremuloides)*

را با محلول ۳ تا ۵ درصد هیپوکلریت سدیم برای ۵ تا ۱۵ دقیقه سترون کرد و سپس آنها را در محیط کشت ACM[1] مستقر نمود. Douglas (۱۹۸۴) میانگره‌های خواب گونه های مختلف صنوبر را با محلول هیپوکلریت کلسیم ۷ درصد، برای ۲۰ دقیقه استریل نمود. Agrawal و Gupta (۱۹۹۰) قطعات ساقه *P. euramericana* را با محلول اتانل ۷۰ درصد برای ۱۰ دقیقه و سپس با محلول کلرورمرکوریک ۰/۱ درصد برای ۱۰ تا ۱۵ دقیقه سترون نمودند.

در زمینه کشت اندام صنوبر، Venverloo (۱۹۷۳) از نمونه های میانگره‌ای ساقه صنوبر سیاه در محیط تغییر یافته MS[2] با هورمونهای 2,4-D[3] , NAA[4]، شاخه نابجا بدست آورد. Saito (۱۹۸۰) از کشت بافت کامبیومی *P.deltoides* در فاصله ۱۰ تا ۱۲ هفته کالوس و سپس شاخه نابجا تولید کرد. Douglas (۱۹۸۴) تشکیل جوانه نابجا در میانگره‌های ساقه گونه های مختلف صنوبر را بر محیط MS بدست آورد. Stephen و Hall (۱۹۸۵) تاثیر محتویات محیط و تراکم شاخه را بر تکثیر درون شیشه‌ای شاخه های هیبرید *P. alba * P. gradidentata* بررسی کرد. Welander (۱۹۸۹) تکثیر صنوبر *Wilsocarpa* را با کشت جوانه انتهایی بر محیط WPM[5] با NAA ۰/۰۱ و BA[6] ۰/۱ میلی گرم بر لیتر بدست آورد. Ernest, Coleman(۱۹۹۰) از نمونه های میانگره‌ای ساقه در ۴ ژنوتیپ مختلف گونه مزبور و در حضور زآتین شاخه جانبی بدست آورد. Gupta (۱۹۹۱) رشد گیاهچه هارا از نمونه‌های گره‌ای درختان ۲۵ ساله *P. euramericana* بر محیط MS نشان داد.

در مورد ریزازدیادی گونه های چوبی بالغ، منبع جداکشتی قابل توصیه است که واجد مزایایی از قبیل سادگی روش، در دسترس بودن نمونه و حداقل میزان

1- ACM: Aspen culture medium
2- MS: Mourashige and Skoog medium
3- 2,4-D: 2,4-dichlorophenoxy acetic acid
4- NAA: Naphthyl acetic acid
5- WPM: Woody plant medium
6- BA: 6-BAP: 6-Benzyl amino purine

اکسیداسیون فنلی بعد از برشدهی باشد.جوانه ها در مقایسه با سایر اندامها، مزایای فوق را برای کشت دارا هستند. بنابراین در بررسی حاضر از کشت جوانه انتهایی برای تکثیر پایه های برگزیده سفیدپلت، استفاده شده است که خود اولین تحقیق در زمینه کشت بافت و اندام ژنوتیپهای مختلف این گونه باارزش در ایران می‌باشد و در طی آن بهترین محیط کشت‌با مناسبترین‌غلظت‌هورمونی‌برای‌ریزازدیادی‌نمونه‌مزبورپیشنهادشده‌است.

مواد و روشها

قطعات سرشاخه‌ای واجد جوانه انتهایی از پایه های متعلق به ۴ رویشگاه مختلف در فصول متفاوت سال جمع آوری و به محل کشت منتقل شدند.رویشگاههای مزبور عبارت بودند از :

۱- جنگل لاکوژده در منطقه صفرابسته گیلان، سن درخت حدود ۴۰ سال .

۲- جنگل شفارود در منطقه پیلمبران گیلان، سن درخت حدود ۳۵ - ۴۰ سال .

۳- جنگل کاسپین در موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع، سن درخت حدود ۲۵ سال.

۴-نهالهای ۲ ساله حاصل از کشت بافت در مزرعه تحقیقاتی موسسه مزبور.

در مرحله پیش سترون سازی، پس از شستشو و برس کشی سطح نمونه ها با مایع ظرفشویی و محلول اتانل ۷۰ درصد و نیز کاربرد محلول قارچ کش بنومیل ۰/۵ درصد برای نیم ساعت، پوسته برداری از آنها صورت گرفت و سپس نمونه ها در همان محلول الکلی برای ۳۰ تا ۶۰ ثانیه قرار گرفت. در مرحله سترون سازی، جوانه ها با محلولهای ضدعفونی کننده مختلف نظیر هیپوکلریت سدیم (با کلر فعال از ۰/۱ تا ۲ درصد)و کلرورمرکوریک ۰/۱ درصد در زمانهای مختلف، سترون شدند.

بعد از استقرار جوانه هادر داخل محیط کشت MS با ۰/۵ میلی گرم بر لیتراز هورمون BA، ریزنمونه ها در سه نوع محیط کشت مختلف (۱۲)MS با ۱/۲ غلظت نیترات، (۸)WPM، و(۵)ACM با غلظتهای مختلف از ۰/۵ تا ۲ میلی گرم برلیتر BA

منتقل شدند. در این بررسی ۳۶ تیمار (سه نوع محیط کشت با سه نوع غلظت متفاوت هورمونی برای ۴ نوع ژنوتیپ مختلف) و برای هر تیمار ۲۴ تکرار در نظر گرفته شد و ۳ بازکاشت ماهیانه از نمونه‌ها بر محیطهای مزبور در طی آن انجام گرفت.

محیط کشتهای مصرفی باکاربرد آگار BDH به میزان ۶گرم برلیتر در pH=۵/۹ جامد گردیدند. کشتها در فاصله دو بازکشت در اتاق رشد با کنترل فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و حرارت ۲۵ درجه سانتی گراد در روز و ۱۵ درجه در شب و شدت نور ۳ تا ۴ هزار لوکس لامپهای خورشیدی نگهداری شدند.

ضریب ازدیاد شاخه ها، رشد طولی و سبزینگی آنها در هر تیمار و بعد از هر بازکشت، بدقت یادداشت شدند و در نهایت میانگینی از اعداد مربوط به هر بازکشت به عنوان یک تکرار برای انجام آنالیز واریانس عوامل مورد بررسی محاسبه شد. داده‌های بدست آمده به صورت آزمایشهای فاکتوریل سه عاملی در قالب طرحهای کاملا تصادفی از نظر آماری تجزیه شد و میانگینها با روش دانکن در سطح ۹۵ درصد مقایسه گردید .

نتایج

روش سترون سازی بسته به فصل، محل برداشت، ژنوتیپ، سن پایه های مادری و محل انتخاب نمونه در پایه متفاوت بود . بطوریکه در فصل پاییز، روش غوطه وری در اتانل ۷۰ درصد برای ۳۰ ثانیه و سپس استفاده از محلول ۰/۱ درصد کلرورمرکوریک در زمان ۲ تا ۶ دقیقه بسته به نوع ژنوتیپ نمونه های مورد بررسی، به عنوان تیمار بهینه سترون سازی برای نمونه های برداشتی از بالای درخت، تعیین گردید (زمان ۲ دقیقه برای ژنوتیپ ۴، زمان ۴ دقیقه برای ژنوتیپ ۳ و زمان ۶ دقیقه برای ژنوتیپ ۱و۲ در نظر گرفته شد). نتایج سترون سازی در جداول ۱و۲ آمده است. مطالعه تاثیر محیط کشتهای مختلف بر شدت شاخه‌زایی و رشد طولی، محیط کشت MS با نصف غلظت نیترات را برای استقرار، شاخه‌زایی و تکثیر ژنوتیپهای مورد بررسی سفیدپلت، شاخص

می‌نماید. کاربرد غلظتهای مختلف از هورمون BA در محیط کشتهای مختلف، نشان داد که غلظت ۰/۵ میلی گرم بر لیتر این هورمون، برای استقرار، شاخه‌زایی و تکثیر مناسب نمونه ها در هر سه محیط کشت مصرفی، به عنوان غلظت بهینه، می‌باشد. در ضمن افزایش غلظت این هورمون از ۰/۵ تا ۲ میلی گرم بر لیتر در هر سه محیط کشت مذکور، منجر به کاهش رشد طولی و ضریب ازدیاد شاخه ها گردید(جدول ۳، تصویر ۱ و ۲).

در مورد هر ۴ ژنوتیپ مورد بررسی، با تغییر محیط کشت، غلظت مناسب هورمونی نیز تغییر می‌کند بطوریکه بالاترین ضریب ازدیاد و رشد طولی مناسب شاخه ها در محیط MS با غلظت ۰/۵ میلی گرم برلیتر BA و برای ژنوتیپ ۳ حاصل گشته است (جدول ۴، تصویر ۳، نمودار ۱).

در محیط ACM بالاترین میزان تکثیر شاخه ها در غلظت ۰/۵ BA و برای ژنوتیپ ۳ و بیشترین رشد طولی شاخه ها در همان غلظت ولی برای ژنوتیپ ۲ بدست آمد (جدول ۴، تصویر ۴). در محیط WPM بالاترین رشد طولی در غلظت ۰/۵ BA و برای ژنوتیپ ۳ حاصل گشته ولی بالاترین ضریب ازدیاد را ژنوتیپ ۳ در غلظت ۱ BA داشته است (جدول ۴، تصویر ۵) .

پس از تکثیر متعدد شاخه ها در محیط MSبا ۱/۲ غلظت نیترات و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر از BA، با انتقال نمونه های ۱ تا ۲ سانتی متری به محیط MS فاقد هورمون برای یک تا دو هفته آنها، آماده ریشه‌زایی گردیدند. این عمل در همین محیط و با ۰/۵ میلی گرم برلیتر از IBA صورت گرفت (تصویر ۶) .گیاهان مزبور مراحل سازگاری تدریجی با محیط و در نهایت استقرار در مزرعه را با موفقیت پشت سر گذاشتند (تصویر ۷).

بحث و نتیجه گیری

در زمینه سترون سازی نمونه ها، برداشت جوانه از قسمتهای بالایی پایه پاسخ مناسبتری را به تیمارهای استریل از خود نشان داد که این مسئله احتمالا به علت وجود

ترشحات صمغی و کرکهای نمدی سطح برگهای مجاور جوانه ها می‌باشد. در قسمتهای پایینی پایه به دلیل تراکم بیشتر شاخ و برگهای درخت، جذب آلودگیهای سطحی بر آنها بیشتر صورت می‌گیرد. برس کشی سطح جوانه هابا آب و مایع ظرفشویی و سپس اتانل و نیز پوسته برداری آنها با حذف مکانیکی این زوائد، در کاهش آلودگیهای مذکور نقش دارد.زمان کاربرد محلول کلرورمرکوریک برای ضدعفونی کردن نمونه ها، در مورد نمونه های ژنوتیپ ۱ و ۲ بیشتر از نمونه های ژنوتیپ ۳ می‌باشد که علت آن تراکم بیشتر پایه‌ها در جنگلهای شمالی کشور و نیز درجه بالاتر رطوبت محلی آن مناطق نسبت به تهران و در نتیجه آلودگی بیشتر پایه های مذکور می باشد.در مورد فصل برداشت نمونه، پاییز مناسب‌ترین زمان به نظر می‌رسد، زیرا وضعیت فیزیولوژیکی جوانه ها و پوسته های اطراف آن در این فصل به گونه‌ای است که در عین حالیکه اجازه نفوذ مناسب محلولهای ضدعفونی کننده را به داخل بافت جوانه می‌دهد از سوختن آن نیز ممانعت می‌نماید. Gupta (۱۹۹۱) نتیجه مشابهی را با *P. euramericana* در مورد فصل برداشت نمونه و محلولهای استریل کننده بدست آورد.

در مرحله شاخه‌زایی، محیط کشت MS به دلیل غلظت بالای یونی املاح پرمصرف و میزان سوکروز آن نسبت به دو محیط کشت دیگر، جواب مطلوبتری از رشد و تکثیر را از خود نشان داد. Ahuja (۱۹۸۳) در بررسی کشت شاخه ۶ کلون مختلف صنوبر در محیطهای MS و WPM در حضور هورمون BA تکثیر سریع شاخه را بر محیط MS مشاهده کرد. در محیطهای WPM و ACM میزان تکثیر شاخه ها، بسته به نوع ژنوتیپ به کار گرفته شده، متفاوت بود. Coleman و Ernest (۱۹۸۹) در بررسی تاثیر ژنوتیپ بر شاخه‌زایی *P.deltoides* همین تفاوت را در مورد شاخه‌زایی جداکشتهای میانگره‌ای ۱۶ ژنوتیپ صنوبر مزبور شاهد بودند. Ahuja (۱۹۸۲) نیز در حین بررسی تکثیر سریع صنوبرها از ژنوتیپهای مختلف سخت ریشه زا در مورد ۴۸ کلون صنوبر دریافت که پاسخ رشد و تمایز جداکشتها تحت تاثیر محیط کشت و ژنوتیپ

می‌باشد.

در زمینه ریشه‌زایی، استفاده از هورمون IBAبه میزان ۰/۵ میلی گرم برلیتر، درصد بالایی از ریشه‌زایی در نمونه‌ها را باعث می‌گردد. Ahuja (۱۹۸۳) ریشه‌زایی شاخه‌های *Aspen (P.tremoloides)*را در محیط دارای IBA ۰/۵ و NAA ۰/۱ میلی‌گرم برلیتر بدست آورد.

سپاسگزاری

از مسئولین محترم موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع به خصوص از ریاست محترم بخش ژنتیک و فیزیولوژی آقای دکتر میرزایی که امکان انجام این پروژه را در آزمایشگاه بخش عملی ساختند نیز متشکریم. از آقای قائدی بخاطر زحمتی که در قبال چاپ و ظهور تصاویر کشیده‌اند نیز قدردانی می‌نماییم.

منابع

۱ - ثابتی، حبیب اله ۱۳۴۴. درختان و درختچه های ایران. صفحه ۲۶۹.

۲ - جلیلوند، حمید ۱۳۶۷. بررسی انتشار جغرافیایی و شرایط اکولوژیکی گونه سفیدپلت در جنگلهای شمال ایران پایان نامه فوق لیسانس .

3- Ahuja, M.R. 1982. Isolation , culture and fusion of protoplasts , problems prospects. Silvae Genetica, 31:6o-77.

4- Ahuja, M. R. 1983. A commercially feasible micropropagation methods for *Aspen*. Silvae Genetica. 33: 174-176.

5- Ahuja, M.R. 1987, In vitro propagation of *Poplar, Aspen.* In: Bonga, J.M. and D.J., Durzane, (Eds) Cell and Tissue Culture in Forestry. 2:207 - 223.

6- Coleman. G.G. and S.G. Ernest, 1989. *In vitro* shoot regeneration of *P. deltoides* effect of cytokinin and genotype.

Plant Cell Reports, 8 :459-462.

7- Douglas, G.C. 1984. Formation on adventitious buds in stem internodes of *Populus Spp* cultures in vitro on basal medium. Plant Physiology, 116: 313-321.

8- FAO, 1979. *Poplar and Willows* in wood production and land use. Forestry Ser. No 10, Rome Italy: 15-20.

9- Gupta. Agrawal. 1990. *In vitro* plantlet development from explant 15- years old trees of *P. euramericana* a hybrid *poplar.* Plant Science, 8: 99-105.

10- Mourashige, T. and F. Skooge. 1962. Advised medium for rapid growth and bio - assays with *Tobbaco* tissue culture. Physology Plant, 15: 473-497.

11- Rutledge, C.B. and G.C. Douglas, 1988. Culture of meristem tips and micropropagation of 12 commercial clones of *Poplar in vitro*. Physiology Plant, 72: 367-373.

12- Saito,A.1980. Medium for shoot formation from somatic callus tissues in *Populus* .J . Jap. for Soc. 62: 270-272.

13-Venverloo. C.J. 1973. The formation of adventitious organs. Acta. Bot.Neerl.22:390-398.

14-Welander, E. J. 1989. *In vitro* propagation of *P. wilsocarpa* Plant, Cell, Tissue and Organ Culture. 18 :209-219.

Influence of medium , hormone and genotype on micropropagation of *Populus caspica*

Emam.[1] *M., Majd. A.*[2], *Izadpanah*[1] *M.,*
Jafary-Mofidabady[1] *A.*

Abstract

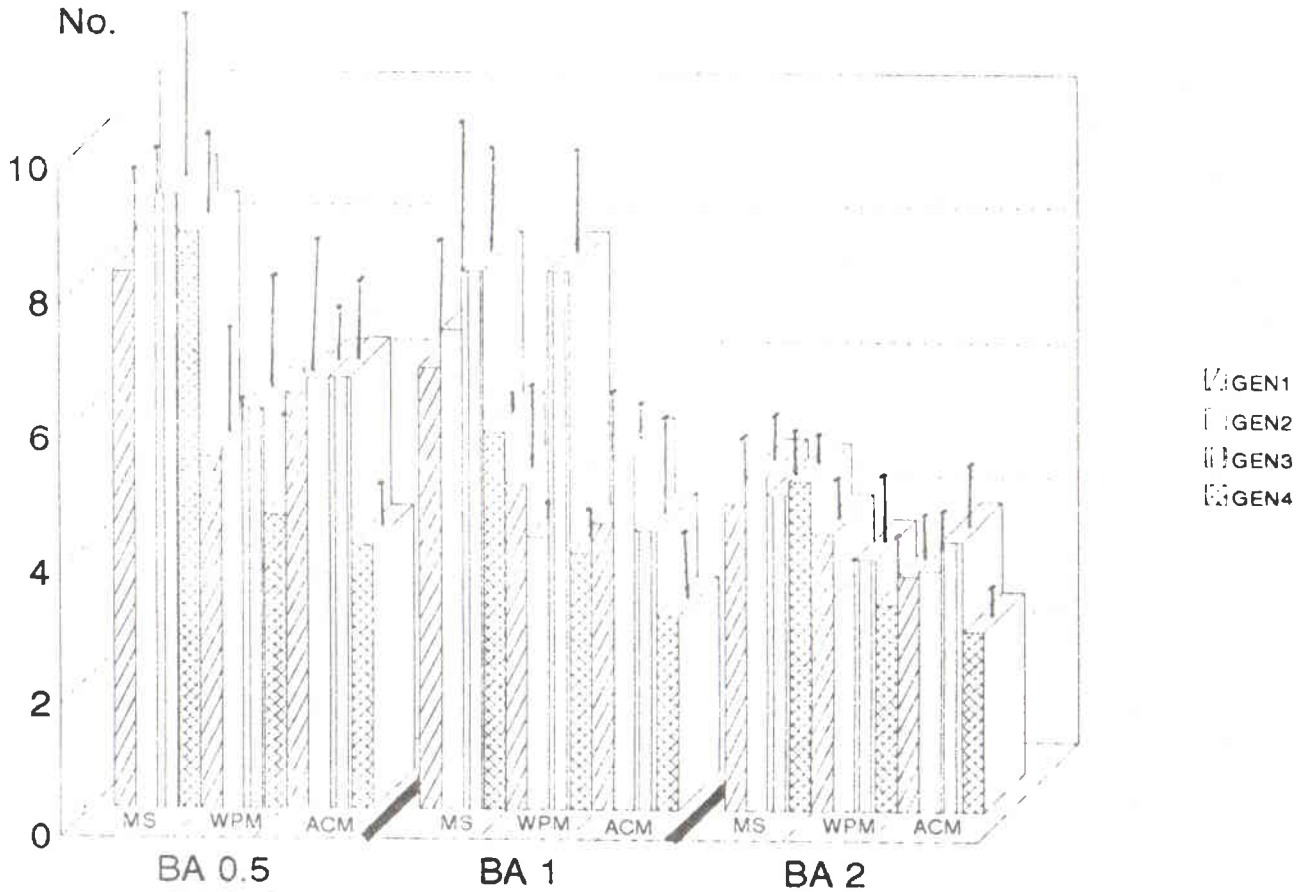
Shoot tips from different genotypes of *Populus caspica*, were collected from adult trees grown in northern forests of Iran.

After surface sterilization , these explants were cultured on three different media containing BA (0.5 - 2)mg/lit and IBA (0.01) mg/lit .The rate of shoot multiplication , shoot length growth and other responses of these genotypes were investigated . All of them showed rapid multiplication , when cultured on half strength MS containing 0.5 - 2 mg/lit BA and 0.01 mg/lit IBA. The number of shoots formed per explant varied for each genotype. Genotype 3 had the highest prolifration in the same conditions.

All of such shoots rooted in MS medium with 0.5 mg/lit IBA. This plantlets were transferred in soil and 100 % of these plants successfully established in the field conditions.

1- Scientific Member of Research Institute of Forests and Rangelands.

2- Scientific Member of Tarbiat Moallem University



نمودار شمارهٔ ۱ - تأثیر غلظت هورمونی، محیط کشت و ژنوتیپ بر شاخه‌زایی

جدول شماره ۱- سترون‌سازی: تأثیر پوسته‌برداری جوانه‌ها، به‌کارگیری قارچ‌کش و تیمارهای مختلف سترون‌سازی بر میزان استقرار جوانه‌ها

فصل برداشت	ژنوتیپ	روش پیش‌سترون	روش سترون	درصد آلودگی قارچی	درصد آلودگی میکروبی	درصد نکروزگی	درصد جوانه فعال
بهار	(۳)	c(۳۰"),b(۳۰')	o(۱۲')	۶۰	۳۰	-	۱۰
			ó(۷')	۵۵	۱۵	۱۰	۲۰
			k(۲')	۳۵	۲۰	۲۰	۲۵
			M(۲')	-	-	۶۰	۴۰
			M(۳')	-	-	۸۰	۲۰
تابستان	(۳)	C (۳۰')	M(۲')	-	-	۱۰۰	-
			M(۲')	-	-	۱۰۰	-
			M(۳')	-	-	۱۰۰	-
			k(۳')	-	-	۱۰۰	-
پاییز	(۳)	با فلس‌برداری +c(۳۰')	M(۳')	۵	۵	-	۹۰
			L(۳۰'),M(۱')	۷۰	۳۰	-	-
		بدون فلس‌برداری +C(۳۰')	M(۳')	۳۸	۱۲	-	۴۸

توضیح علائم سترون‌سازی:

قارچ‌کش بنومیل در غلظت ۰/۵ درصد :b

شستشو با اتانل ۷۰٪ :c

محلول هیپوکلریت سدیم با کلر فعال ۰/۵ درصد :o

محلول هیپوکلریت سدیم با کلر فعال ۰/۷۵ درصد :ó

محلول هیپوکلریت سدیم با کلر فعال ۰/۱ درصد :k

محلول کلرور مرکوریک با غلظت ۰/۱٪ :M

محلول هیپوکلریت سدیم با کلر فعال۲ درصد :L

جدول شماره ۲- سترون‌سازی: تأثیر فصول مختلف سال بر میزان استقرار جوانه‌ها در مورد دو ژنوتیپ ۱ و ۳

ژنوتیپ گیاه	فصل برداشت	روش سترون	درصد آلودگی قارچی پس از کشت	درصد آلودگی میکروبی پس از کشت	درصد استقرار
۱	بهار	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۲ دقیقه	۶۴	۱	۳۵
	تابستان	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۶ دقیقه	۲۵	-	۷۵
	پاییز	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۶ دقیقه	-	-	۱۰۰
۳	بهار	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۲ دقیقه	-	-	۴۰
	تابستان	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۲ دقیقه	-	-	-
	پاییز	کلرور مرکوریک ۰/۱٪ به مدت ۴ دقیقه	۵	۵	۹۰

جدول شمارهٔ ۳- اثر محیط کشت و غلظتهای مختلف هورمونی بر شاخه‌زایی و رشد طولی ژنوتیپهای سفید پلت SX=۰/۱۸۳، LSD=۱/۶۳، SX=۰/۵۵۴، LSD=۱/۵۶۱، α=۰/۰۵، رشد طولی α=۰/۰۵

محیط کشت و غلظت هورمونی	علائم میانگین ضریب ازدیاد	جمع کل شمارش	علائم میانگین رشد طولی	جمع کل شمارش
MS, BA ۰/۵	۸/۶۴۰a	۱۰۳/۶۷۶	۲/۶۶۱a	۳۱/۹۳۷
MS, BA ۱	۶/۹۰۲b	۸۲/۸۲۱	۱/۷۶۰ab	۲۱/۱۲۰
MS, BA ۲	۴/۸۷۰cd	۵۸/۴۴۱	۰/۷۹۲b	۹/۵۰۸
WPM, BA ۰/۵	۵/۴۷۳bc	۶۵/۶۸۰	۱/۰۵۱ab	۱۲/۶۱۲
WPM, BA ۱	۵/۲۲۳bcd	۶۲/۶۷۸	۰/۴۴۰ab	۵/۲۷۵
WPM, BA ۲	۳/۵۸۷d	۴۳/۰۵۰	۰/۲۵۰b	۳/۰۰۲
ACM, BA ۰/۵	۵/۷۹۹bc	۶۹/۵۸۶	۱/۲۳۱ab	۱۴/۷۷۴
ACM, BA ۱	۴/۲۰۱cd	۵۰/۴۱۳	۰/۴۰۴b	۴/۸۴۲
ACM, BA ۲	۳/۴۹۳d	۴۱/۹۲۱	۰/۲۰۲b	۲/۴۲۲

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند از نظر آماری فاقد اختلاف معنی‌دار بوده و در یک دسته قرار می‌گیرند.

جدول شمارهٔ ۴- محیط کشت، ژنوتیپ و غلظتهای هورمونی بر شاخه‌زایی و رشد طولی ژنوتیپهای صنوبر سفید پلت (SX=۰/۳۶۵ و LSD=۳/۲۵۵، SX=۱/۱۰۷ و LSD=۳/۱۲۲)

محیط کشت و غلظت هورمونی	علائم میانگین ضریب ازدیاد	جمع کل شمارش	علائم میانگین رشد طولی	جمع کل شمارش
MS, BA ۰/۵-۱	۸/۰۵۳abc	۲۴/۱۶۰	۲/۴۰۰	۷/۲۰۰
MS, BA ۰/۵-۲	۸/۶۷۷ab	۲۶/۰۳۰	۲/۷۳۳	۸/۲۰۰
MS, BA ۰/۵-۳	۹/۱۹۳a	۲۷/۵۸۰	۳/۳۰۰	۹/۹۰۰
MS, BA, ۰/۵-۴	۸/۶۳۵ab	۲۵/۹۰۶	۲/۲۱۲	۶/۶۳۷
MS, BA ۱-۱	۶/۶۳۷abcde	۱۹/۹۱۰	۱/۳۴۰	۴/۰۲۰
MS, BA ۱-۲	۷/۲۱۰abcd	۲۱/۶۳۰	۲/۱۸۳	۶/۵۵۰
MS, BA ۱-۳	۸/۰۶۷abc	۲۴/۲۰۰	۲/۱۸۳	۶/۵۵۰
MS, BA ۱-۴	۵/۶۹۴abcdef	۱۷/۰۸۱	۱/۳۳۳	۴/۰۰۰
MS, BA ۲-۱	۴/۷۵۰cdef	۱۴/۲۵۰	۰/۸۲۳	۲/۴۶۹
MS, BA ۲-۲	۵/۰۲۷bcdef	۱۸/۰۸۱	۰/۸۲۳	۲/۴۶۹
MS, BA ۲-۳	۴/۷۴۷cdef	۱۴/۲۴۰	۰/۵۹۰	۱/۷۷۰
MS, BA ۲-۴	۴/۹۵۷bcdef	۱۴/۸۷۰	۰/۵۹۳۳	۲/۸۰۰
WPM, BA ۰/۵-۱	۵/۸۰۰abcdef	۱۷/۴۰۰	۱/۱۲۶	۳/۳۷۹
WPM, BA ۰/۵-۲	۵/۳۵۰bcdef	۱۶/۰۵۰	۰/۹۶۷	۲/۹۰۰
WPM, BA ۰/۵-۳	۶/۰۲۷abcdef	۱۸/۰۸۰	۱/۲۳۰	۳/۶۹۰
WPM, BA ۰/۵-۴	۴/۷۱۷cdef	۱۴/۱۵۰	۰/۸۸۱	۲/۶۴۳
WPM, BA ۱-۱	۴/۸۷۰bcdef	۱۴/۶۱۰	۰/۵۴۰	۱/۶۲۰
WPM, BA ۱-۲	۴/۰۹۷def	۱۲/۲۹۰	۰/۳۵۷	۱/۰۷۰
WPM, BA ۱-۳	۸/۰۶۷abc	۲۴/۲۰۰	۰/۴۴۷	۱/۳۴۰
WPM, BA ۱-۴	۲/۸۵۹def	۱۱/۵۷۸	۰/۴۱۵	۱/۲۴۵
WPM, BA ۲-۱	۴/۱۷۷def	۱۲/۵۳۰	۰/۳۰۷	۰/۹۲۰
WPM, BA ۲-۲	۳/۲۵۷ef	۹/۷۷۰	۰/۱۶۹	۰/۵۰۸
WPM, BA ۲-۳	۳/۷۹۳def	۱۱/۳۸۰	۰/۳۰۳	۰/۹۱۰
WPM, BA ۲-۴	۳/۱۲۳ef	۹/۳۷۰	۰/۲۲۱	۰/۶۶۴
ACM, BA ۰/۵-۱	۶/۲۶۲abcdef	۱۸/۷۸۶	۱/۰۲۱	۳/۰۶۴

ادامه جدول شمارهٔ ۴-

محیط کشت و غلظت هورمونی	علائم میانگین ضریب ازدیاد	جمع کل شمارش	علائم میانگین رشد طولی	جمع کل شمارش
ACM, BA ۰/۵-۲	۶/۴۶۷abcdef	۱۹/۴۰۰	۱/۷۷۰	۵/۳۱۰
ACM, BA ۰/۵-۳	۶/۴۹۲abcdef	۱۹/۴۷۵	۱/۳۲۰	۳/۹۶۰
ACM, BA ۰/۵-۴	۳/۹۷۵def	۱۱/۹۲۵	۰/۸۱۳	۲/۴۴۰
ACM, BA ۱-۱	۴/۳۱۳cdef	۱۲/۹۴۰	۰/۲۸۷	۰/۸۶۲
ACM, BA ۱-۲	۵/۳۲۸bcdef	۱۵/۹۸۵	۰/۸۱۳	۲/۴۴۰
ACM, BA ۱-۳	۴/۲۲۰def	۱۲/۶۶۰	۰/۳۱۰	۰/۹۳۰
ACM, BA ۱-۴	۲/۹۴۳ef	۸/۸۲۸	۰/۲۰۳	۰/۶۱۰
ACM, BA ۲-۱	۳/۵۵۴def	۱۰/۶۶۳	۰/۱۷۷	۰/۵۳۲
ACM, BA ۲-۲	۳/۶۲۷def	۱۰/۸۸۰	۰/۱۵۳	۰/۴۶۰
ACM, BA ۲-۳	۴/۰۶۹def	۱۲/۲۰۸	۰/۰۹۷	۰/۲۹۰
ACM, BA ۲-۴	۲/۷۲۳f	۸/۱۷۰	۰/۳۸۰	۱/۱۴۰

تصویر شماره ۱ - استقرار جوانه‌ها در محیط کشت

تصویر شماره ۲- شاخه‌زایی و رشد طولی صنوبر سفیدپلت

تصویر شمارهٔ ۳- مقایسه شاخه‌زایی و رشد طولی ریزنمونه‌ها در محیط کشت (WPM)

ژنوتیپها به ترتیب از چپ به راست ۱، ۲، ۳ و ۴.

تصویر شمارهٔ ۴- مقایسه شاخه‌زایی و رشد طولی ریزنمونه‌ها در محیط کشت (MS)

ژنوتیپها به ترتیب از چپ به راست ۱، ۲، ۳، ۴.

تصویر شمارهٔ ۵- مقایسه شاخه‌زایی و رشد طولی ریزنمونه‌ها در محیط کشت (ACM)

ژنوتیپها به ترتیب از چپ به راست ۱، ۲، ۳، ۴.

تصویر شماره ۶- ریشه‌زایی و تولید گیاهچه کامل ریشه

تصویر شماره ۷- مرحله سازگاری گیاه با شرایط طبیعی محیط و استقرار نهالها در مزرعه تحقیقاتی