فصلنامه علمی - پژوهشی تحقیقات جنگل و صنوبر ایران
جلد ۲۴ شماره ۲، صفحه ۳۵۵-۳۴۴، (۱۳۹۵)

اثر تیمارهای ایندول بوتیریک اسید، باکتریایی و قارچی بر ریشه‌زایی قلمه‌های زالزالک ایروانی (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.)

فاطمه احمدلو[۱*]، مسعود طبری کوچکسرایی[۲] و غلامرضا گودرزی[۳]

۱*- نویسنده مسئول، دکترای جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
پست الکترونیک: fatemeh_ahmadloo@yahoo.com
۲- استاد، گروه جنگل‌داری، دانشکده منابع طبیعی و علوم دریایی، دانشگاه تربیت مدرس، نور، ایران
۳- مربی پژوهش، بخش تحقیقات منابع طبیعی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مرکزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، اراک، ایران

تاریخ دریافت: ۹۴/۰۵/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۹/۰۷

چکیده

پژوهش پیش‌رو به‌منظور یافتن شیوه‌نامه مناسب برای ریشه‌زایی و تولید نهال زالزالک ایروانی (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.) از طریق قلمه چوب سخت با تیمارهای ایندول بوتیریک اسید (IBA)، باکتریایی و قارچی با دو منشأ متفاوت جست و نهال انجام شد. قلمه‌ها در دو آزمایش جداگانه در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۱ تیمار و سه تکرار ۱۰ تایی در بستر شاسی گرم کشت شدند. تیمارها شامل قرار دادن انتهای قلمه در ۳/۵ درصد وزنی حجمی آب اکسیژنه (H_2O_2) و سپس کاربرد IBA با غلظت‌های صفر (شاهد)، یک، دو، سه، پنج، هشت و ۱۰ گرم در لیتر، قرار دادن انتهای قلمه در محلول چهار گرم در لیتر IBA و سپس قرار دادن در سوسپانسیون باکتریایی (*Agrobacterium rhizogenes* A13، *Pseudomonas fluorescens* 169 و *Bacillus subtilis* FzB24) و مایه تلقیح قارچی *Glomus intraradices* بود. در آزمایش اول قلمه‌هایی با منشأ جست در بستر شاسی کشت شدند و پس از گذشت سه ماه در شرایط عرصه بازکاشت نهال‌ها انجام شد و خصوصیات ریشه‌زایی نهال‌ها پس از گذشت یک فصل رویشی ارزیابی شد. در آزمایش دوم از نهال‌های تولیدشده از آزمایش اول قلمه تهیه شد و آزمایش در شرایط گلخانه و عرصه و با تیمارهایی همانند آزمایش اول انجام شد. نتایج نشان داد که در آزمایش اول بیشترین درصد ریشه‌زایی در ترکیب H_2O_2 با غلظت سه گرم در لیتر IBA و بیشترین مشخصه‌های سطح ریشه، سطح ویژه برگ، وزن خشک نهال، ارتفاع و کلروفیل مربوط به تیمار ترکیبی IBA با سوسپانسیون باکتریایی *A. rhizogenes* بود. در آزمایش دوم، بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمارهای ترکیب H_2O_2 باغلظت سه گرم در لیتر و پنج گرم در لیتر IBA و تیمار ترکیبی IBA با سوسپانسیون باکتریایی *A. rhizogenes* مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: اکسین، بستر شاسی، تلقیح باکتریایی، ریشه‌زایی، سطح ریشه، منشأ قلمه.

مقدمه

زالزالک ایروانی (*Crataegus pseudoheterophylla* Pojark.) متعلق به جنس Crataegus از خانواده Rosaceae و بومی آسیای غربی شامل کشورهای افغانستان، ایران، ترکیه و جمهوری‌های آسیای مرکزی ازجمله قفقاز و آناتولی است (Mozaffarian, 2004). زالزالک به‌دلیل دارا بودن خواص دارویی، زینتی، خوراکی، پناهگاه برای حیات وحش، حفاظت خاک و کنترل فرسایش حایز اهمیت است. زالزالک بهترین پایه برای پیوند درختان گلابی (*Pyrus* spp.)، سیب (*Malus* spp.)، به (*Cydonia* spp.) و ازگیل

(*Mespilus* spp.) است (Qrunfleh, 1993). از خصوصیات دیگر این جنس بردباری به خشکی، سرما و خاک‌های فقیر از عناصر تغذیه‌ای است، اگرچه در خاک‌هایی با قابلیت زهکشی استقرار دارد. دارای میوه پیرن (Pyrene) کوچک، تک‌هسته‌ای، قرمز تیره مایل به ارغوانی تیره و کروی با آندوکارپ استخوانی است (Mozaffarian, 2004). زالزالک‌ها هم از طریق جنسی (بذر) و هم غیرجنسی (قلمه، پیوند و پیوند جوانه) تکثیر می‌شوند. روش معمول تکثیر جنس زالزالک از طریق بذر است، اما با مشکلاتی مانند خواب دوگانه بذر (خواب فیزیکی و خواب جنین)، میزان جوانه‌زنی کم، طولانی بودن زمان تکثیر و وابستگی به فصول خاصی از سال همراه است (Ahmadloo *et al.*, 2014). امروزه تکثیر رویشی به دلایل آسان و راحت‌تر بودن تکثیر، گزینش و نگهداری کلن‌ها، کوتاه کردن زمان رشد زایشی، کنترل مراحل رشد و ریخت‌شناسی، عدم تفرق صفات ژنتیکی و حفظ ساختمان ژنی برترین ژنوتیپ‌ها، نسبت به تکثیر زایشی مزیت دارد (Hartmann *et al.*, 2002).

در موفقیت تکثیر نهال از طریق قلمه، منشأ تهیه قلمه از پایه مادری (شاخه، جست و نهال) می‌تواند مهم باشد، به‌طوری‌که با افزایش سن پایه مادری و بالغ شدن بافت، تأخیر زمان ریشه‌دهی، کاهش قابلیت ریشه‌دهی و توسعه ریشه اتفاق می‌افتد (Stenvall *et al.*, 2004). در این ارتباط Sadati و همکاران (۲۰۱۰) در بررسی ریشه‌زایی سفیدپلت (*Populus caspica*) نتیجه گرفتند که قلمه‌های تهیه‌شده از ساقه نهال یک‌ساله و شاخه یک‌ساله درخت میان‌سال، میزان جوانه‌زنی و کارایی تولید بیشتری نسبت به قلمه‌های به‌دست‌آمده از جست یک‌ساله تتارد (جست یک‌ساله درخت هرس‌شده میان‌سال در ارتفاع سه متری) نشان دارند. تحقیقاتی نیز درخصوص افزایش ریشه‌زایی قلمه خانواده Rosaceae با استفاده از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی انجام شده است. ثابت شده است که رفتار ریشه‌زایی ارتباط نزدیکی با میزان اکسین داخلی قلمه دارد (Kebede *et al.*, 2013). Payne و Krewer (۱۹۹۰) در مورد زالزالک *C. opaca*، ۳۵٪ ریشه‌زایی را در قلمه‌های نرم و ۱۰٪ ریشه‌زایی را در قلمه‌های سخت در تیمار هشت گرم در لیتر IBA و دو گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA) گزارش کردند. میزان ریشه‌زایی ۴۶/۶٪ به‌دنبال تیمار با سه گرم در لیتر IBA توسط Jafari و Bouzari (۲۰۱۰) در مورد قلمه چوب سخت *Prunus avium* و ریشه‌زایی ۲۷٪ درصد در تیمار یک گرم در لیتر IBA توسط Exadaktylou و همکاران (۲۰۰۹) در پایه رویشی Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *P. canescens*) گزارش شد.

در سال‌های اخیر از روش‌های نوین برای القای ریشه‌زایی قلمه‌های سخت ریشه‌زا درختان چوبی مانند کودهای زیستی (Bio-fertilizers) تهیه‌شده از آگروباکتریوم رایزوژنز (*Agrobacterium rhizogens*) (Ercan *et al.*, 1999) و برخی گونه‌های جنس Pseudomonas و Bacillus استفاده شده است که علاوه‌بر تثبیت زیستی نیتروژن و محلول کردن فسفر خاک با تولید مقادیر قابل ملاحظه مواد و هورمون‌های تحریک‌کننده رشد به‌ویژه انواع اکسین‌ها، جیبرلین‌ها و سیتوکینین‌ها، رشد و نمو و عملکرد گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Ahemad & Kibret, 2014). نتایج Azizi و همکاران (۲۰۰۷) در بررسی ریشه‌زایی زرشک بی‌دانه (*Berberis vulgaris*) و فیکوس بنجامین (*Ficus benjamin*) با غلظت‌های ۴۰۰۰ و پنج گرم در لیتر IBA و پس از خشک شدن و قرارگیری به‌مدت ۲۰ دقیقه در سوسپانسیون باکتریایی *A. rhizogenes* نشان داد که در هیچ‌کدام از تیمارها ریشه‌زایی زرشک بی‌دانه انجام نشد، اما ریشه‌زایی قلمه‌های *F. Benjamin* در غلظت پنج گرم در لیتر IBA به ۸۲/۲ درصد در سویه باکتریایی GM1 و ۷۵/۵ درصد در سویه A4 رسید. همچنین قارچ‌های میکوریزی ازجمله *G. intraradices* از طریق جذب آب و عناصر غذایی و افزایش مقاومت گیاه در برابر عامل‌های بیماری‌زا سبب بهبود تغذیه گیاه، کاهش تنش‌های زیستی (بیماری‌های گیاهی) و غیرزیستی (شوری، خشکی و عناصر سنگین) و افزایش ریشه‌زایی قلمه می‌شوند (Scagel *et al.*, 2004). در مورد ریشه‌زایی *Rose* spp.، Scagel و همکاران (۲۰۰۴) بیشترین وزن خشک، طول و تعداد ریشه

را در محلول هورمونی تجاری ترکیبی از ۱/۰۳گرم در لیتر IBA و ۰/۶۶گرم در لیتر NAA و سپس تلقیح با *G. intraradices* نتیجه گرفتند.

زالزالک ایروانی به‌دلیل پراکنش اکولوژیک محدود، زادآوری طبیعی ضعیف و مشکلات تکثیر نهال، در معرض تهدید قرار دارد. از آنجایی‌که ریشه‌دار کردن قلمه ساقه زالزالک به‌ندرت موفقیت‌آمیز است و جزء گونه‌های سخت ریشه‌زا است (Dirr, 1998)، شناخت رفتار ریشه‌زایی قلمه آنها برای اولین بار در جهان می‌تواند بسیار ارزشمند باشد و در راستای توسعه جنگل‌کاری‌ها و حفاظت ژنتیکی مؤثر باشد. پژوهش پیش‌رو به‌دنبال یافتن دستورالعمل مناسب برای ریشه‌زایی و تولید نهال گونه مورد مطالعه از طریق قلمه چوب سخت با انواع تیمارهای اکسینی، باکتریایی و قارچی است تا نتایج آن مورد استفاده کلیه متخصصان قرار گیرد که اولین گزارش درخصوص ریشه‌زایی قلمه گونه حاضر در جهان است.

مواد و روش‌ها

منطقه جمع‌آوری گونه

محل جمع‌آوری قلمه‌های گونه مورد مطالعه در این پژوهش، روستای دوخواهران شهرستان شازند استان مرکزی بخش مرکزی دهستان آستانه بود که در فاصله هشت کیلومتری از شازند با عرض جغرافیایی"۵۶´۵۱°۳۳ تا "۵۹´۵۶°۳۳ شمالی و طول جغرافیایی "۱۲´۲۴°۴۹ تا "۰۷´۴۰°۴۹ شرقی قرار گرفته است. متوسط ارتفاع منطقه ۲۲۰۰ متر، متوسط بارندگی منطقه ۵۶۸/۵ میلی‌متر و اقلیم منطقه نیمه‌مرطوب سرد و کوهستانی است. بافت خاک لومی شنی تا لومی رسی شنی با اسیدیته ۷/۸ تا هشت و میزان هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک ۰/۵ میلی‌موس بر سانتی‌متر است (Aghakhani & Metaji, 2010).

روش پژوهش

آزمایش اول

در آذرماه ۱۳۹۱ قلمه‌هایی به طول ۱۵ سانتی‌متر و قطر حدود هفت تا ۱۰ میلی‌متر با سه جوانه جانبی از پاجوش یک‌ساله درختان کف‌برشده ۱۰ تا ۱۵ ساله (با قطر هفت تا هشت سانتی‌متر) از منطقه روستای دوخواهران جمع‌آوری شد. قلمه‌ها پس از برداشت به گلخانه پژوهشکده گل و گیاهان زینتی محلات انتقال داده شدند و بلافاصله گندزدایی آنها با محلول قارچ‌کش بنومیل با غلظت دو در هزار به‌مدت ۱۵ دقیقه انجام شد و سپس شستشوی قلمه‌ها با آب انجام شد. بریدگی با چاقوی جراحی به طول یک سانتی‌متر و ضخامت دو میلی‌متر در پایین هر قلمه روی پوست پیش از اعمال تیمارها انجام شد. سپس قلمه‌ها بلافاصله در شاسی گرم که تا عمق ۳۰ سانتی‌متر حاوی ماسه بادی و سپس با بستر مخلوط استریل شده ماسه: پرلیت: کوکوپیت به‌نسبت حجمی ۲:۱:۱ پوشانده شده بودند، کشت شدند. آزمایش در قالب طرح کامل تصادفی با ۱۱ تیمار و سه تکرار ۱۰ تایی و ۳۳۰ قلمه اجرا شد. تیمارهای آزمایش با فروبری انتهای قلمه در ۳/۵ درصد وزنی حجمی H_2O_2 به‌مدت ۳۰ ثانیه (Sebastiani *et al*., 2004) و پس از خشک شدن، فروبری به‌مدت ۱۰ ثانیه در محلول IBA (Exadaktylou *et al*., 2009) و یا فروبری انتهای قلمه در محلول چهار گرم در لیتر IBA به‌مدت ۱۰ ثانیه و پس از خشک شدن، فروبری به‌مدت ۶۰ دقیقه در هر یک از سوسپانسیون باکتریایی و مایه تلقیح قارچی (Ahmadloo *et al*., 2014) در جدول ۱ آمده است.

آزمایش در گلخانه مجهز به سیستم مه‌پاش با فاصله زمانی روزها هر ۴۵ دقیقه و شب‌ها هر ۶۰ دقیقه با مدت زمان پاشش ۲۰ ثانیه و شرایط رطوبتی ۷۰ درصد و دمای حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۶ درجه سانتی‌گراد در شب انجام شد. شدت نور طبیعی به‌وسیله نورسنج (LI-COR، Li250، USA) سنجیده شد؛ به‌طوری‌که در اوایل دوره کشت به‌دلیل تاریک کردن محیط برای ریشه‌زایی قلمه‌ها، ۱۸۵ میکرومول بر متر مربع در ثانیه درنظر گرفته شد و سپس با روشن کردن محیط گلخانه به‌طور تدریجی، میزان شدت نور به میزان ۵۰۰ میکرومول بر متر مربع در ثانیه رسید. دمای سیستم پاگرمایی لوله‌های آب گرم در ۲۵ درجه سانتی‌گراد در داخل بسترهای شاسی با عرض یک

متر، طول سه متر و عمق نیم متر تنظیم شد. پس از حدود دو ماه از کشت، چندین مرتبه از محلول غذایی هوگلند برای تغذیه استفاده شد (Ercisli *et al*., 2004). پس از گذشت سه ماه، نهال‌ها از بستر شاسی خارج شدند و پس از محاسبه درصد ریشه‌زایی، نهال‌ها با فاصله ۳۰ سانتی‌متر از یکدیگر و فاصله ردیف‌های ۷۰ سانتی‌متر در شرایط باز عرصه پژوهشکده بازکاشت شدند. آبیاری در ابتدا به‌صورت روزانه تا ۱۰ روز برای اطمینان از استقرار نهال‌ها انجام شد و سپس به چهار روز در میان کاهش یافت. چندین بار وجین علف هرز به‌صورت دستی برای کنترل علف‌های هرز در طی فصل رشد انجام شد. نهال‌ها بعد از گذشت ۲۴۵ روز، برای بررسی تأثیر تیمارهای انجام‌شده بر خصوصیات رشدشان از خاک خارج شدند.

جدول ۱- تیمارهای به‌کاربرده‌شده با **IBA**، سوسپانسیون باکتریایی و مایه تلقیح قارچی بر قلمه‌های ***C. pseudoheterophylla***

تیمار	پیش‌تیمار	غلظت IBA (گرم در لیتر)	سوسپانسیون باکتریایی	مایه تلقیح قارچی
۱		۰ (شاهد)	–	–
۲		۱	–	–
۳	فروبری انتهای قلمه در ۳/۵ درصد وزنی حجمی H_2O_2	۲	–	–
۴		۳	–	–
۵		۵	–	–
۶		۸	–	–
۷		۱۰	–	–
۸	فروبری انتهای قلمه در محلول چهار گرم در لیتر IBA	–	*A. rhizogenes* A13	–
۹		–	*P. fluorescens* 169	–
۱۰		–	*B. subtilis* FzB24	–
۱۱		–	–	*G. intraradices*

صفات مورد ارزیابی در این پژوهش شامل درصد ریشه‌زایی، طول ریشه با استفاده از دستگاه دلتاتی اسکن (Delta-T Scan, Campbell, Hong Kong) و حجم ریشه از طریق غوطه‌ور کردن ریشه در آب و اندازه‌گیری میزان جابجایی آن در استوانه مدرج بر حسب سانتی‌متر مکعب به‌دست آمد. سطح ریشه از رابطه ۱ (Alizadeh, 2005) به‌دست آمد. سطح برگ با استفاده از دستگاه دلتا تی اسکن و سطح ویژه برگ (سانتی‌متر مربع بر گرم) از رابطه ۲ به‌دست آمد. وزن خشک نهال از روش توزین با ترازوی دیجیتالی با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم و ارتفاع و میزان کلروفیل کل برگ از روش (Lichtenthaler & Wellburn, 1983) تعیین شد. همچنین تیمارهای NAA، IAA و 2.4.D با غلظت‌های مختلف بر قلمه‌ها اعمال شد که در هیچ‌یک از تیمارها ریشه‌زایی روی نداد، بنابراین در نتایج تحقیق آورده نشد.

$$A= 2\ (V.\pi.L)^{0.5}$$ رابطه (۱)

که در آن: A= سطح ریشه (سانتی‌متر مربع)، V= حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب) و L= طول ریشه (سانتی‌متر)

$$B= L/G$$ رابطه (۲)

که در آن: B= سطح ویژه برگ، L= سطح برگ (سانتی‌متر مربع)، G= وزن خشک برگ (گرم)

در پژوهش پیش‌رو، استوک اینوکولوم باکتری‌ها از مؤسسه تحقیقات خاک و آب کرج تهیه شد که از ارقام بومی خاک ایران و از ایزوله کردن ریزوسفر ذرت و گندم با کشت تله‌ای تهیه شده بود. جمعیت قارچ تجاری *G. intraradices* نیز برابر با ۲۵۰ پروپاگول در گرم بود که از کشت درون شیشه‌ای ریشه هویج توسط بخش بیولوژی خاک تکثیر شده بود.

آزمایش دوم

برای انجام آزمایش دوم، ۳۳۰ قلمه در آذر ۱۳۹۲ از نهال‌های تولیدشده از آزمایش اول تهیه شدند و سپس در شرایط گلخانه، تیمارهایی مانند آزمایش اول بر آنها اعمال شد. پس از گذشت سه ماه نهال‌ها از بستر شاسی خارج شدند و مشخصه‌های درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، وزن ریشه و سطح ریشه آنها مورد ارزیابی قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS17 انجام شد. ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف- سمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها به‌وسیله آزمون لیون تست شد. برای تعیین اختلاف آماری داده‌ها از آزمون تجزیه واریانس یک‌طرفه و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چنددامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج

آزمایش اول

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده معنی‌داری همه صفات مورد مطالعه در تیمارها بود. بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمار چهار (غلظت سه گرم در لیتر IBA) و بیشترین مشخصه‌های سطح ریشه، سطح ویژه برگ و ارتفاع در تیمار هشت (*A. rhizogenes*) و وزن خشک نهال در تیمار شش (غلظت ۸ گرم در لیتر IBA) و کلروفیل در تیمار ۱۱ (*G. intraradices*) وجود داشت (جدول ۲).

آزمایش دوم

نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده معنی‌داری همه صفات مورد مطالعه در تیمارها بود. بیشترین درصد ریشه‌زایی در تیمارهای چهار (غلظت سه گرم در لیتر IBA)، پنج (غلظت پنج گرم در لیتر IBA) و هشت (سوسپانسیون باکتریایی *A. rhizogenes*) مشاهده شد. بیشترین تعداد ریشه در تیمار چهار (غلظت سه گرم در لیتر IBA) وجود داشت. بیشترین وزن ریشه در تیمارهای هشت (*A. rhizogenes*) و ۱۰ (*B. subtilis*) مشاهده شد. بیشترین سطح ریشه نیز در تیمارهای چهار (غلظت سه گرم در لیتر IBA) و پنج (غلظت پنج گرم در لیتر IBA) وجود داشت (جدول ۳).

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس و میانگین مشخصه‌های درصد ریشه‌زایی، رشد و میزان کلروفیل نهال *C. pseudoheterophylla* تحت تأثیر تیمارهای اکسین IBA، باکتریایی و قارچی (آزمایش اول)

تیمارها	ریشه‌زایی (درصد)	سطح ریشه (سانتی‌متر مربع)	سطح ویژه برگ (سانتی‌متر مربع بر گرم)	وزن خشک نهال (گرم)	ارتفاع (سانتی‌متر)	کلروفیل (میلی‌گرم بر گرم وزن تازه)
F	۵/۹۶**	۶/۲۰۲**	۲/۶۸۸**	۵/۲۳۳**	۳/۴۱۷**	۴/۶۳۴**
۱	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ c
۲	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ c
۳	۱۰±۰/۷۷ bcd	۸/۸۵±۰/۴۷ cd	۱۵/۲۵±۰/۶۳ c	۹/۱۵±۰/۵۷ b	۱۳/۶±۰/۸ bc	۴/۹۹±۰/۵۴ bc
۴	۲۳/۳۳±۳/۳۳ a	۱۶/۷۷±۰/۷۸ abc	۲۴/۶۷±۱/۱۲ b	۱۴/۰۲±۰/۱۱ a	۲۲/۶±۰/۴۶ ab	۱۰/۱۲±۰/۱۵ a
۵	۱۶/۶۷±۳/۳۳ abc	۲۳/۵۹±۱/۵۷ ab	۲۲/۸۶±۰/۷۷ b	۱۵/۲±۰/۰۸ a	۲۷/۶±۱/۴۲ ab	۱۰/۹۸±۰/۲ a
۶	۲۰±۰/۰۰ ab	۲۶/۴۹±۱/۷۶ ab	۲۵/۱۶±۰/۴۵ b	۱۵/۳۴±۰/۰۷ a	۲۸/۲۳±۱/۹۶ ab	۱۱/۲۱±۰/۵۳ a
۷	۶/۶۶±۰/۳۳ cd	۹/۴۹±۰/۷۶ cd	۱۸/۱۸±۰/۸۷ bc	۹/۹±۰/۹۵ b	۱۶/۱±۰/۸۵ bc	۶/۰۸±۰/۳۷ b
۸	۱۶/۶۷±۳/۳۳ abc	۲۶/۷۷±۱/۴ a	۳۳/۹۸±۰/۸۸ a	۱۴/۰۹±۰/۰۹ a	۳۷/۴±۱/۷۲ a	۱۱/۴۷±۰/۲۴ a
۹	۶/۶۷±۰/۳۳ cd	۱۴/۲۲±۰/۹۵ bc	۲۴/۸۵±۲/۵۲ b	۸/۶±۰/۳۱ b	۲۶/۹۳±۱/۴۷ ab	۷/۶±۰/۸۱ b
۱۰	۶/۶۷±۰/۳۳ cd	۱۴/۵۳±۰/۹۳ abc	۲۴/۹۲±۱/۳۹ b	۱۲/۵۱±۰/۹۹ a	۲۳/۷±۱/۸۶ ab	۶/۶۵±۰/۳۷ b
۱۱	۱۳/۳۳±۱/۳۳ abc	۱۸/۰۹±۰/۳۳ abc	۱۷/۲±۰/۷۱ c	۱۳/۵۹±۰/۳ a	۲۴/۶۲±۰/۴۳ ab	۱۱/۶۲±۰/۳۷ a

تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: غلظت ۱ گرم در لیتر IBA، تیمار ۳: غلظت ۲ گرم در لیتر IBA، تیمار ۴: غلظت ۳ گرم در لیتر IBA، تیمار ۵: غلظت ۵ گرم در لیتر IBA، تیمار ۶: غلظت ۸ گرم در لیتر IBA، تیمار ۷: غلظت ۱۰ گرم در لیتر IBA، تیمار ۸: سوسپانسیون باکتریایی *A.rhizogenes*، تیمار ۹: سوسپانسیون باکتریایی *P. fluorescens*، تیمار ۱۰: سوسپانسیون باکتریایی *B. subtilis* و تیمار ۱۱: مایه تلقیح قارچی *G. intraradice* . حروف بعد از ± اشتباه معیار است. **معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد. حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون، اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد را نشان می‌دهد.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس و میانگین مشخصه‌های درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه، وزن ریشه و سطح ریشه نهال *C. pseudoheterophylla* تحت تأثیر تیمارهای اکسینی IBA، باکتریایی و قارچی (آزمایش دوم)

تیمارها	ریشه‌زایی (درصد)	تعداد ریشه	وزن ریشه (گرم)	سطح ریشه (سانتی‌متر مربع)
F	۷/۰۱۵**	۲/۹۸۷*	۸/۳۳۵**	۶/۵۵۳**
۱	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d
۲	۶/۶۷±۰/۳۶ c	۱±۰/۰۵ bc	۰/۰۴±۰/۰۰ cd	۵/۹۱±۰/۴۱ c
۳	۱۰±۰/۷۷ bc	۲/۳۳±۰/۲۲ ab	۰/۰۸±۰/۰۰ bc	۱۴±۰/۹۹ b
۴	۳۰±۲/۶۷ a	۳/۶۷±۰/۳۷ a	۰/۱۳±۰/۰۱ ab	۲۰/۸۴±۰/۵۶ a
۵	۲۸/۳۳±۳/۳۳ a	۲/۳۳±۰/۳۳ ab	۰/۱۳±۰/۰۱ ab	۲۰/۲۵±۰/۴ a
۶	۱۶/۶۷±۲/۳۲ b	۲±۰/۳۱ abc	۰/۱۱±۰/۰۱ ab	۱۴/۳۳±۰/۷ b
۷	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ c	۰/۰۰±۰/۰۰ d	۰/۰۰±۰/۰۰ d
۸	۳۰±۱/۷۷ a	۳±۰/۳ ab	۰/۱۷±۰/۰۱ a	۱۵/۹۹±۰/۱۴ ab
۹	۱۳/۳۳±۰/۶۸ b	۲/۶۷±۰/۲۳ ab	۰/۱۴±۰/۰۱ ab	۱۴/۴۹±۰/۸۱ b
۱۰	۱۳/۳۳±۰/۷۸ b	۱/۶۷±۰/۱۴ abc	۰/۱۶±۰/۰۱ a	۱۳/۶۳±۰/۵۶ b
۱۱	۲۰±۱/۳۵ ab	۲/۳۳±۰/۲۲ ab	۰/۱۴±۰/۰۱ ab	۱۴/۵۹±۰/۳ b

تیمار ۱: شاهد، تیمار ۲: غلظت ۱ گرم در لیتر IBA، تیمار ۳: غلظت ۲ گرم در لیتر IBA، تیمار ۴: غلظت ۳ گرم در لیتر IBA، تیمار ۵: غلظت ۵ گرم در لیتر IBA، تیمار ۶: غلظت ۸ گرم در لیتر IBA، تیمار ۷: غلظت ۱۰ گرم در لیتر IBA، تیمار ۸: سوسپانسیون باکتریایی*A.rhizogenes*، تیمار ۹: سوسپانسیون باکتریایی*P. fluorescens*، تیمار ۱۰: سوسپانسیون باکتریایی *B. subtilis* و تیمار ۱۱: مایه تلقیح قارچی *G. intraradices* . حروف بعد از ± اشتباه معیار است. **معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۹ درصد؛ *معنی‌دار در سطح اطمینان ۹۵ درصد. حروف انگلیسی متفاوت در هر ستون، اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح اطمینان ۹۵ درصد را نشان می‌دهد.

بحث

آزمایش اول

در پژوهش پیش‌رو در شاهد و تیمار یک (قرار دادن انتهای قلمه در ۳/۵ درصد وزنی حجمی H_2O_2 و سپس کاربرد غلظت یک گرم در لیتر IBA)، ریشه‌زایی قلمه مشاهده نشد. این مورد نشان می‌دهد که H_2O_2 به تنهایی سبب ریشه‌زایی نمی‌شود حتی در ترکیب با غلظت کم IBA نیز امکان ریشه‌زایی قلمه وجود ندارد. تولید ریشه از طریق قلمه جنس زالزالک به‌دلیل میزان بسیار کم هورمون‌ها و کوفاکتورهای تولید ریشه، افزایش مواد فنلی و لیگنینی شدن بافت‌های استحکامی مانند لایه اسکلرانشیم و کلانشیم (Dirr & Heuser, 1987) و ضخامت کم کوتیکول مومی‌شکل که سبب کاهش سریع آب بافت ساقه می‌شود (Bates & Niemiera, 1996)، به‌سختی انجام می‌گیرد. اگرچه اکسین‌ها با افزایش غلظت کربوهیدرات‌ها در منطقه ریشه و هیدرولیز آنزیم‌ها بر ریشه‌زایی و تحریک فعالیت مریستمی تأثیر می‌گذارند (Husen & Pal, 2007)، اما قلمه‌های برخی از گونه‌ها که سخت ریشه‌زا هستند، با تولید اکسین نیز ریشه اندکی می‌دهند، بنابراین همیشه اکسین عامل محدودکننده در ریشه‌زایی نیست. گزارش شده است که اکسین‌ها به‌تنهایی در تحریک فعالیت‌های مریستمی و ریشه‌زایی گونه‌های سخت ریشه‌زا تأثیر کمی می‌گذارند (Liao *et al*., 2010). امکان دارد که عدم کوفاکتورهای ریشه‌زایی، فعالیت آنزیمی و مواد فنلی در عدم و یا ریشه‌زایی کم قلمه نقش داشته باشند. کوفاکتور H_2O_2 با فعال‌کردن آنزیم‌ها، مقدار کربوهیدرات‌ها را افزایش و مقدار پلی‌فنل‌ها و بازدارنده‌ها را کاهش می‌دهد (Liao *et al*., 2010). همچنین از طریق تولید اکسین IAA، شرکت در فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی، توسعه دیواره سلولی و سنتز ترکیب ریزوکالین (Rhizokalin) در برگ‌ها و انتقال آنها به سمت ریشه در ریشه‌زایی و توسعه ریشه‌های جانبی تأثیرگذار هستند (Sarrou *et al*., 2014). به‌دلیل ایجاد اثر سینرژیکی بین ترکیب اکسین با کوفاکتور H_2O_2 (Liao *et al*., 2010)، در پژوهش پیش‌رو کاربرد H_2O_2 همراه با غلظت‌های مختلف IBA اعمال شد که سبب افزایش ریشه‌زایی در قلمه‌ها شد که با نتایج Sadeghi و Rajab Nezhad (۲۰۱۰) در مورد زیتون (*Olea europaea*) رقم رشید هم‌خوانی دارد. در تحقیق Sebastiani و همکاران (۲۰۰۴) در مورد قلمه‌های زیتون رقم فرانتویو با کاربرد IBA با غلظت چهار گرم در لیتر در ترکیب با ۵/۳ درصد وزنی حجمی H_2O_2، ۷۷ درصد ریشه‌زایی و ۶/۵ عدد ریشه به‌دست آمد و نتیجه گرفتند که کاربرد هم‌زمان IBA و H_2O_2 سبب ریشه‌زایی و افزایش طول ریشه قلمه شده است. اگرچه بیشترین میزان ریشه‌زایی در غلظت سه گرم در لیتر IBA به‌دست آمد و غلظت‌های بیشتر از این مقدار احتمالاً به‌دلیل بهم خوردن تعادل هورمونی و تخریب بافت‌های ته قلمه، تأثیر منفی بر درصد ریشه‌زایی گذاشته است (Exadaktylou *et al*., 2009). همچنین کاربرد اکسین‌های سنتزشده با غلظت زیاد می‌تواند از نمو جوانه و حتی نمو شاخساره جلوگیری کند که این امر می‌تواند دلیل کاهش رشد و وزن خشک نهال‌های به‌دست‌آمده از قلمه در پژوهش پیش‌رو باشد.

در پژوهش پیش‌رو، تیمار قرار دادن انتهای قلمه در محلول چهار گرم در لیتر IBA و پس از خشک شدن قرارگیری آن در سوسپانسیون باکتریایی *A. rhizogenes*، بیشترین سطح ریشه، سطح ویژه برگ و ارتفاع را نشان داد. به‌نظر می‌رسد *A. rhizogenes* نسبت به باکتری‌های دیگر به‌کار رفته در پژوهش پیش‌رو اثر سینرژیکی قوی‌تری را با اکسین نشان داده است و تولید بیشتری از تنظیم کننده‌های رشد مانند اکسین و متابولیت‌های ثانویه در این باکتری گزارش شده است. حال آن‌که *P. fluorescens* و *B. subtilis* با تثبیت نیتروژن، سبب نمو شاخه و تشکیل ریشه جانبی با افزایش فراهمی عناصری مانند فسفر و آهن می‌شوند. در پژوهش Esitken و همکاران (۲۰۰۳) با بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف IBA به‌صورت ساده یا در ترکیب با *Agrobacterium rubi* و سویه‌های (A1، A16 و A18) بر قلمه‌های *P. cerasus*، بیشترین درصد ریشه‌زایی و رشد نهال در تیمار تلفیقی IBA در غلظت ۰/۲۵ گرم در لیتر و سویه A16 مشاهده شد. برخی از پژوهشگران گزارش

کرده‌اند که اثر باکتری‌ها بر ریشه‌زایی در ترکیب با IBA فزونی می‌یابد (Bassil *et al*., 1991; Ercisli *et al*., 2004). همچنین بر رشد گیاه از طریق توسعه ریشه و جذب کربن و نیتروژن تأثیر می‌گذارند که با نتایج پژوهش پیش‌رو مطابقت دارد. Karakurt و همکاران (۲۰۰۹) ۵۰ درصد ریشه‌زایی را در بررسی اثر غلظت‌های مختلف IBA در ترکیب با باکتری‌های *A. rubi* A18 و *B. subtilis* Osu42، بر ریشه‌زایی پایه سیب (*Malus* spp.) نتیجه گرفتند. در حالی‌که در شاهد قلمه‌ها ریشه‌دهی نشان ندادند. Caboni و همکاران (۱۹۹۶) نیز در مورد گردو (*Juglans regia*)، ۶۲/۹ درصد ریشه‌زایی را در ترکیب سوسپانسیون *A. rhizogenes* سویه ۱۸۵۵ با ۰/۰۰۲ گرم در لیتر IBA به‌دست آوردند.

افزایش ریشه‌زایی قلمه می‌تواند مربوط به افزایش سنتز هورمون IAA، تولید سیدروفور (Siderophore) و حلالیت فسفر باشد. همچنین افزایش میزان وزن خشک نهال نیز به تولید ACC دامیناز (ACC deaminase)، تثبیت نیتروژن و رهاسازی آن در مراحل حساس نیاز کودی، توانایی باکتری‌ها در حذف عامل‌های بیماری‌زای خاکزی، تولید مواد محرک رشد و تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، افزایش قابلیت دسترسی به عناصر غذایی و توسعه سیستم ریشه‌ای به‌منظور دست‌یابی بیش‌تر به آب و مواد غذایی توسط باکتری‌ها نسبت داده شده است (Indiragandhi *et al*., 2008). بهبود سطح ویژه برگ نهال‌ها را نیز می‌توان ناشی از افزایش فعالیت آنزیم‌های مربوط به رشد دانست که سبب تبدیل مواد اندوخته‌ای به مواد انتقالی و درنتیجه افزایش رویش گیاه می‌شود. همچنین تولید هورمون‌ها و افزایش عملکرد جذب فسفر، نیتروژن و آهن توسط باکتری‌ها منجر به افزایش سطح برگ و عملکرد گیاه می‌شود و بر مقدار کلروفیل و رنگیزه‌های فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد (Zhao *et al*., 2005).

در پژوهش پیش‌رو ترکیب IBA با قارچ میکوریزی *G. intraradices* پارامترهای ریشه‌زایی و رشد را نسبت به شاهد افزایش داد و بیشترین وزن خشک نهال و میزان کلروفیل نهال در این تیمار به‌دست آمد که با نتایج Scagel (۲۰۰۱) در مورد قلمه‌های *Rosa* spp. هم‌خوانی دارد. اگرچه قارچ نسبت به باکتری *A. rhizogenes*، مقادیر کمتری از پارامترهای مورد بررسی را نشان داد. تلقیح همزمان قارچ‌های میکوریزی با اکسین‌ها به‌دلیل تولید اثر سینرژیکی می‌تواند سبب افزایش در القای ریشه و رشد آن شود (Scagel, 2004). همچنین پژوهشگران بیان کرده‌اند که سیگنال‌هایی بین قارچ و قلمه منتقل می‌شود که متابولیسم قلمه را تغییر می‌دهد و تغییرات اولیه در القای کالوس، القای ریشه و توسعه آن، وزن ریشه و رشد نهال انجام می‌گیرد. ازجمله این سیگنال‌ها می‌توان به آزاد کردن متابولیت‌هایی مانند دی‌اکسیدکربن از انتهای قلمه اشاره کرد که سبب تحریک تولید اسپورها یا هیف‌های قارچ می‌شود و از این طریق جذب آب و عناصر تغذیه‌ای از جمله فسفر را افزایش می‌دهد (Tamasloukht *et al*., 2003). Scagel و همکاران (۲۰۰۴) بیشترین وزن خشک ریشه، طول ریشه و تعداد ریشه *Rose* spp. را در محلول هورمونی ترکیبی از ۱/۰۳ گرم در لیتر IBA و ۰/۶۶گرم در لیتر NAA و سپس تلقیح با *G. intraradices* نتیجه گرفتند. قارچ میکوریزی *G. intraradices* در ترکیب با هورمون سبب هیدراته شدن بافت قلمه و حفظ رطوبت آن می‌شود و از این طریق وزن ریشه و رشد آن را افزایش می‌دهد و می‌تواند از طریق ذخیره کربن و تجمع قند محلول در ریشه‌های گیاهان نیز سبب رشد نهال شود (Scagel, 2004).

آزمایش دوم

قلمه‌های گرفته‌شده از منشأ نهال دارای ویژگی‌های جوان بودن، افزایش فعالیت رشدی، سطوح زیاد اکسین داخلی، سطوح زیاد جذب روی، بر و پتاسیم، کربوهیدرات، شکرهای نامحلول، مقدار فنل‌های آزاد، میزان ازت کم و کم بودن طول و عرض عناصر آوندی و فیبری است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تعرق و تنفس نقش مستقیم دارد و تغییر در مقدار آنها می‌تواند در ریشه‌زایی مؤثر باشد (Yeboah *et al*., 2009). قلمه‌های تهیه‌شده از نهال به‌دلیل دارا بودن خصوصیات مورفولوژیکی جوانی

بیشترین ریشه‌زایی را نشان می‌دهند که این پدیده را توپوفیزیس (Topophysis) می‌نامند که در آن ژن‌های خاصی فعالیت می‌کنند و آنزیم‌های خاصی را تولید می‌کنند که سبب بازجوان‌سازی ژنتیکی قلمه می‌شوند. به دلایل ذکرشده فوق، در پژوهش پیش‌رو نهال‌های تولیدشده از قلمه‌های با منشأ نهال، درصد ریشه‌زایی بیشتری (۳۰ درصد) در تیمارهای چهار (غلظت سه گرم در لیتر IBA) و هشت (*A. rhizogenes*) نسبت به نهال‌های تولیدشده از منشأ جست (۲۳/۳۳ درصد) در تیمار چهار نشان دادند. نتایج آزمایش دوم نیز همانند آزمایش اول، بهترین تیمارها را غلظت سه گرم در لیتر IBA و *A. rhizogenes* معرفی کرد و هر دو منشأ جست و نهال پاسخ یکسانی نسبت به تیمارها نشان دادند. اگرچه در منشأ نهال به‌دلیل دارا بودن خصوصیات جوانی، میزان ریشه‌زایی بیشتری به‌دست آمد.

پژوهش پیش‌رو با دستیابی به پروتکل ریشه‌زایی قلمه سخت زالزالک ایروانی، امکان انجام طرح‌های تحقیقاتی دیگری را برای تجاری‌سازی این پروتکل فراهم می‌کند. با توجه به کسب ۳۰ درصد ریشه‌زایی، ضروری است به‌منظور تکثیر تجاری گونه پژوهش پیش‌رو از طریق قلمه‌های سخت، تیمارهای مختلفی با انواع هورمون‌ها و کوفاکتورهای ریشه‌زایی در غلظت‌ها و بسترهای کشت مختلف در دستور تحقیق سایر پژوهشگران قرار گیرد.

References

- Aghakhani, S. and Metaji, A., 2010. The study of ecological and seriate structure of Markazi province jungles. Plant Ecophysiology (Arsanjan Branch), 1(3): 54-62 (In Persian).
- Ahemad, M. and Kibret, M., 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. Journal of King Saud University Science, 26(1): 1-20.
- Ahmadloo, F., Tabari, M., Azadi, P. and Hamidi, A., 2014. Effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPRs) and stratification on germination traits of *Crataegus pseudoheterophylla* Pojark seeds. Journal of Scientia Horticulturae, 172(9): 61-67.
- Alizadeh, A., 2005. Water, Soil and Plant Relationship. Emam Reza Press, Mashhad, 470p (In Persian).
- Azizi, M., Aghabozorgee, M., Farsee, M., Tehranifar, A., Zolalla, J. and Ghabooli, M., 2007. Study on the root adventitious root formation in some horticultural crops using *Agrobacterium rhizogenes*. Agricultural Sciences and Technology (Special Issue in Horticulture Science), 21(2): 79-87 (In Persian).
- Bassil, N.V., Proebsting, W.M., Moore, L.W. and Lightfoot, D.A., 1991. Propagation of hazelnut stem cuttings using *Agrobacterium rhizogenes*. Horticultural Science, 26(8): 1058-1060.
- Bates, R.M. and Niemiera, A.X., 1996. A comparison of morphological features affecting water loss in Norway maple and Washington hawthorn stems. Journal of Environmental Horticulture, 14(2): 71-76.
- Caboni, E., Lauri, P., Tonelli, M., Falasca, G. and Damiano, C., 1996. Root induction by *Agrobacterium rhizogenes* in walnut. Plant Science, 118: 203-208.
- Dirr, M.A. and Heuser, C.W. Jr., 1987. The Reference Manual of Plant Propagation: From Seed to Tissue Culture. Varsity Press, Athens, Georgia, 239p.
- Dirr, M.A., 1998. Manual of Woody Landscape Plants, Their Identification, Ornamental Characteristics, Culture, Propagation and Uses. Stipes Publishing L.L.C., Athens, Georgia, 1187p.
- Ercan, A., Taskin, M., Turgut, K. and Yuce, S., 1999. *Agrobacterium rhizogenes*-mediated hairy root formation in some *Rubia tinctorum* L. populations grown in Turkey. Turkish Journal of Botany, 23(6): 373-377.
- Ercisli, S., Esitken, A. and Sahin, F., 2004. Exogenous IBA and inoculation with *Agrobacterium rubi* stimulate adventitious root formation on hardwood stem cuttings of two Rose genotypes. HortScience, 39(3): 533-534.
- Esitken, A., Ercisli, S., Sevik, I. and Sahin, F., 2003. Effect of indole-3-butyric acid and different strains of *Agrobacterium rubi* on adventive root formation from softwood and semi-hardwood wild sour cherry cuttings. Turkish Journal of Agriculture & Forestry, 27: 37-42.
- Exadaktylou, E., Thomidis, T., Grout, B., Zakynthinos, G. and Tsipouridis, C., 2009. Methods to improve the rooting of hardwood

- Payne, J.A. and Krewer, G.W., 1990. Mayhaw: a new fruit crop for the South: 317-321. In: Janick, J. and Simon, J.E., (Eds.). Advances in New Crops. Timber Press, Portland, 321p.
- Qrunfleh, M.M., 1993. Studies on the hawthorn (*Crataegus azarolus* L.): III. A potential rootstock for 'Golden Delicious' apple and 'Williams' pear. The Journal of Horticultural Science and Biotechnology, 68: 983-988.
- Sadati, S.E., Tabari, M., Assareh, M.H., Heidari Sharifabad, H. and Fayaz, P., 2010. Effect of cutting source and planting depth on vegetative propagation of *Populus caspica* Bornm. Iranian Journal of Forest and Poplar Research, 18(4): 667-679 (In Persian).
- Sadeghi, H. and Rajab Nezhad, K., 2010. Evaluation of simultaneous application of boric acid, hydrogen proxide and tiamine accompanied with indole-3-butyric acid on rooting of olive cuttings cv. Rashid. Iranian Journal of Horticultural Sciences, 41(2): 173-178 (In Persian).
- Sarrou, E., Therios, I. and Dimassi-Theriou, K., 2014. Melatonin and other factors that promote rooting and sprouting of shoot cuttings in *Punica granatum* cv. Wonderful. Turkish Journal of Botany, 38(2): 293-301.
- Scagel, C.F., 2001. Cultivar specific effects of mycorrhizal fungi on the rooting of miniature rose cuttings. Journal of Environmental Horticulture, 19(1): 15-20.
- Scagel, C.F., 2004. Changes in cutting composition during early stages of adventitious rooting of miniature rose altered by inoculation with *Arbuscular mycorrhizal* fungi. Journal of the American Society for Horticultural Science, 129(5): 624-634.
- Sebastiani, L., Tognetti, R., Dipaolo, P. and Vitagliano, C., 2004. Hydrogen peroxide and indole-3-butyric acid effects on root induction and development in cuttings of *Olea europaea* L. cv. Frantoio and Gentilre di larino. Horticultural Science, 16(1): 7-12.
- Stenvall, N., Haapala, T. and Pulkkinen, P., 2004. Effect of genotype, age and treatment of stock plants on propagation of hybrid aspen (*Populus tremula×Populus tremuloides*) by root cuttings. Scandinavian Journal of Forest Research, 19: 303-311.
- Tamasloukht, M.B., Séjalon-Delmas, N., Kluever, A., Jaunean, A., Roux, C., Bécard, G. cuttings of the 'Gisela 5' cherry rootstock. Horticulture Technology, 19(2): 254-259.
- Hartmann, H.T., Hudson, T., Kester, D.E., Dale, E.K., Davies, J.R.F.T. and Geneve, R.L., 2002. Plant Propagation: Principles and Practices. Prentice-Hall Press, London, 770p.
- Husen, A. and Pal, M., 2007. Metabolic changes during adventitious root primordium development in *Tectona grandis* Linn. F. (teak) cuttings as affected by age of donor plants and auxin (IBA and NAA) treatment. New Forests, 33(3): 309-323.
- Indiragandhi, P., Anandham, R., Madhaiyan, M. and Sa, T.M., 2008. Characterization of plant growth promoting traits of bacteria isolated from larval guts of diamondback moth *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). Current Microbiology, 56: 327-333.
- Jafari, M. and Bouzari, N., 2010. Effect of different times of collection and hormone concentrations on rooting of hard and semi-hard wood cuttings in gisela6 cherry rootstock, Seed and Plant Production Journal, 26(3): 343-357 (In Persian).
- Karakurt, H., Aslantas, R., Ozkan, G. and Guleryuz, M., 2009. Effects of indol–3-butyric acid (IBA), plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and carbohydrates onrooting of hardwood cutting of MM106 apple rootstock. African Journal of Agricultural Research, 4 (2): 060-064.
- Kebede, M., Hulten, H. and Balcha, G., 2013. Vegetative propagation of juvenile leafy stem cuttings of Prunus Africana (Hook. F.) Kalkm and Syzygium guineense (Willd.) DC. International Journal of Botany, 9(1): 30-36.
- Liao, W.B., Xiao, H.L. and Zhang, M.L., 2010. Effect of nitric oxide and hydrogen peroxide on adventitious root development from cuttings of ground-cover chrysanthemum and associated biochemical changes. Journal of Plant Growth Regulation, 29: 338-348.
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b in leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.
- Mozaffarian, V., 2004. Trees and Shrubs of Iran. Published by Farhang-e Moaser, Tehran, 1120p (In Persian).

and Franken, P., 2003. Root factors induce mitochondrial-related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to presymbiosis in the *Arbuscular mycorrhizal* fungus *Gigaspora rosea*. Plant Physiology, 131(3): 1468-1478.

- Yeboah, J., Lowor, S.T. and Amoah, F.M., 2009. The rooting performance of shea (*Vitellaria paradoxa* Gaertn) stem cuttings as influenced by wood type, sucrose and rooting hormone. Scientific Research and Essay, 4(5): 521-525.
- Zhao, D., Reddy, K.R. Kakani, V.G. and Reddy, V.R., 2005. Nitrogen deficiency effects on plant growth, leaf photosynthesis and hyperspectral reflactant properties of sorghum. European Journal of Agronomy, 22(4): 391-403.

Effects of IBA, bacterial and mycorrhizal treatments on the rooting of *Crataegus pseudohetrophylla* Pojark. cuttings

F. Ahmadloo[1*], M. Tabari Kouchaksaraei[2] and Gh.R. Goodarzi[3]

1*- Corresponding author, Ph.D. Forestry, Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran. Email: mahsa_ahmadloo@yahoo.com

2- Prof., Department of Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, Noor, Iran

3- Senior Research Expert, Research Division of Natural Recourses, Markazi Agricultural and Natural Resources Research Center, AREEO, Arak, Iran

Received: 16.08.2015 Accepted: 28.11.2015

Abstract

This study was carried out to determine appropriate methods for rooting and seedling production of *Crataegus pseudohetrophylla* Pojark. from hardwood cuttings by IBA, bacterial and mycorrhizal treatments and two different sources of sprout and seedling. For this purpose, cuttings were sown in two separate experiments in a Complete Randomized Design (CRD) with 11 treatments and 3 replications of 10 cuttings in greenhouse benches. Treatments contained dipping the basal end of cuttings in H2O2 (3.5% w/v) followed by the application of IBA at concentrations (0, 1, 2, 3, 5, 8, and 10 g l-1) or dipping in 4 g l-1 IBA and then application of bacterial suspension of *Agrobacterium rhizogenes* A13, *Pseudomonas fluorescens* 169, *Bacillus subtilis* FzB24, and mycorrhizal inoculums of *Glomus intraradices*. In the first experiment, cuttings from sprout source were sown in greenhouse benches. The seedlings were transplanted to the open field condition after three months, and were assessed for rooting characteristics after a season of growth. In the second experiment, cuttings were prepared from seedlings produced from the first experiment, and the experiment was conducted in greenhouse and open field conditions and with similar treatments to those applied in the first experiments. Results showed that in the first experiment the highest rooting percentage was obtained in the combination of H_2O_2 with 3 g l-1IBA, and the highest root area, specific leaf area, total seedling dry weight, height, and total chlorophyll contents were obtained when a combination of IBA with bacterial suspension of *A. rhizogenes* was applied. In the second experiment, the highest rooting percentage was observed for the combination of H_2O_2 with 3 and 5g l-1IBA, as well as for the combination of IBA with bacterial suspension of *A. rhizogenes*.

Keywords: Auxin, greenhouse benches, bacterial inoculation, rooting, root area, source of cutting.