

## اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی و پرآوری شاخساره ارقام توت- فرنگی (*Fragaria ananassa* Duch.)

### Effect of Different Concentrations of Growth Regulators on Shoot Regeneration and Proliferation in Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Cultivars

محمد گردکانه<sup>۱</sup>، علی اکبر مظفری<sup>۲</sup> و رحمت‌اله غلامی<sup>۳</sup>

#### چکیده

این پژوهش به منظور بررسی باززایی و پرآوری شاخساره نوک روندک (Runner) توت فرنگی انجام شد. بر این اساس نوک روندک (۴-۵ میلی‌متر) گیاهان مادری ارقام کردستان، پاروس و کامارسا پس از ضدعفونی، بر روی محیط‌های کشت MS همراه با ترکیبات تنظیم کننده‌های رشد بنزیل آدنین (BA) در چهار غلظت ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر و چهار غلظت صفر، ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ایندول بوتریک اسید (IBA)، کشت شدند. نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد و رقم بر روی باززایی شاخساره نقش حیاتی داشتند. بیش‌ترین درصد باززایی و تعداد شاخساره در هر سه رقم در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست آمد. در این محیط تعداد شاخساره و درصد باززایی در ارقام کردستان (۱۳/۱۳) شاخساره و ۹۲/۳۳ درصد، پاروس (۱۰/۷۶ شاخساره و ۸۹/۳۳ درصد) و کامارسا (۱۲/۱۵ شاخساره و ۸۰/۱۶ درصد) حاصل شد. برای پرآوری شاخساره‌های با سن چهار هفته حاصل از ریزنمونه نوک روندک در محیط کشت MS همراه با ترکیبات هورمونی بنزیل آدنین (BA) در سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر و سه غلظت صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA<sub>3</sub> زیرکشت شدند. بهترین واکنش نسبت به پرآوری شاخساره در محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد، که در ارقام کردستان، پاروس و کامارسا به‌ترتیب تعداد ۳۴/۴۷، ۲۸/۴۶ و ۳۰/۲۵ شاخساره در هر ریزنمونه ظاهر شدند. با این حال، بیش‌ترین تعداد شاخساره‌های قابل برداشت در ارقام کردستان، پاروس و کامارسا به‌ترتیب ۲۱/۳۲، ۱۷/۸۴ و ۱۸/۵۹ در هر ریزنمونه و بالاترین میانگین طول شاخساره در ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA + ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر GA<sub>3</sub> ثبت شد.

**واژه‌های کلیدی:** توت فرنگی، روندک، ریزنمونه، باززایی، تنظیم کننده‌های رشد

۱ و ۳. اعضای هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه

۲. استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج

E-mail: mgerdakaneh@gmail.com

\*: نویسنده مسوول

## مقدمه

توت‌فرنگی (*Fragaria ananassa* Duch.) یک گونه اکتاپلوئید ( $2n = 8x = 56$ ) از جنس *Fragaria* و متعلق به تیره رزاسه است (هائوک<sup>۱</sup>، ۱۹۹۰ و ماتیو<sup>۲</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). توت‌فرنگی به خاطر داشتن آوند چوب ثانویه در ریشه و طوقه، در واقع جزو گیاهان چوبی است اما گیاه علفی در نظر گرفته می‌شود (د/رنل<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۳).

توت‌فرنگی به‌طور سنتی به‌صورت رویشی از طریق روندک تکثیر می‌شود. این روش به‌دلیل بروز آلودگی به بسیاری از بیماری‌ها، خطرات محیطی و از بین رفتن تدریجی خلوص ژنتیکی ارقام توت‌فرنگی، مناسب نیست. علاوه بر این، روش مرسوم تولید برای تامین تقاضای تجاری کافی نیست بنابراین کشت بافت برای تکثیر این گیاه استفاده می‌شود (بیسوس<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). مطالعات متعدد نشان داده که گیاهان تکثیر شده از طریق کشت بافت از نظر عملکرد میوه (مور<sup>۵</sup> و همکاران، ۱۹۹۱)، قدرت رشد، عملکرد، تعداد روندک و برگ در بوته (زبروسکا<sup>۶</sup> و همکاران، ۲۰۰۳ و موهان<sup>۷</sup> و همکاران، ۲۰۰۵) نسبت به روش تکثیر معمول برتری دارد.

اندام‌زایی یک فرآیند فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده‌ای است که مرتبط با تغییرات آنزیمی و هورمون‌های درون‌زا است (تیان<sup>۸</sup> و همکاران، ۲۰۰۳). رابطه مستقیمی بین مقادیر هورمون‌های درون‌زا و تمایز یابی جوانه‌های نابجا وجود دارد (یونگهو<sup>۹</sup> و همکاران، ۲۰۰۵). غلظت بالای اکسین درون‌زا ممکن است از باززایی شاخه جلوگیری نماید و در محیط کشت ریزازدیادی توت‌فرنگی اختلاف قابل توجهی در میان نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر روی درصد باززایی، تعداد شاخساره تولید شده و تعداد شاخساره قابل برداشت وجود دارد (یونگهو<sup>۹</sup> و همکاران، ۲۰۰۵ و بیسوس<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۸).

باززایی گیاهچه بسته به گونه و رقم بسیار متفاوت و پروتکل باززایی از یک گونه به گونه دیگر و از رقمی به رقم دیگر متفاوت است (بارسلو<sup>۱۰</sup>، ۱۹۹۸؛ پاسی<sup>۱۱</sup> و همکاران، ۲۰۰۳ و بیسوس<sup>۴</sup> و همکاران، ۲۰۰۸). مقایسه خصوصیات

ژنتیکی ارقام توت‌فرنگی نشان می‌دهد که تفاوت ژنتیکی در بین ارقام مختلف تعیین‌کننده قابلیت باززایی آن‌ها می‌باشد (پاسی و همکاران، ۲۰۰۳). سینگ و پاندی<sup>۱۲</sup> (۲۰۰۴) و چین-ینگ<sup>۱۳</sup> و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش دادند که اندام‌زایی شاخساره توت‌فرنگی از رقمی به رقم دیگر متفاوت است.

بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی و ارزیابی قابلیت باززایی ریزنمونه نوک روندک ارقام کردستان، کامارسا و پاروس در محیط‌های کشت مختلف جهت انتخاب مناسب‌ترین نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد برای تعیین پرتکل باززایی ارقام، تکثیر انبوه توت‌فرنگی در کوتاه مدت، تسریع در گسترش و توسعه سطح زیرکشت، افزایش عملکرد در واحد سطح و بهبود کیفیت این محصول می‌باشد، هم‌چنین مقدمات تولید گیاهان عاری از ویروس و تعیین پروتکل باززایی ارقام توت‌فرنگی به‌منظور تولید گیاهان تراریخت و انتخاب توت‌فرنگی در شرایط درون شیشه‌ای را فراهم می‌کند. بنابراین اجرای این پژوهش می‌تواند در راستای این اهداف، در رفع مشکلات و موانع تولید توت‌فرنگی مؤثر واقع شود.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان در سال ۱۳۸۸ و ۱۳۸۹ انجام شده است. برای این منظور نوک روندک گیاهان مادری ارقام کردستان، پاروس و کامارسا پرورش یافته در گلخانه جمع‌آوری شده و به‌منظور حذف آلودگی‌های سطحی به‌مدت ۳۰ دقیقه در زیر جریان آب شهری شسته شدند، سپس در هود لامینار به‌مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۶ درصد قرار داده و به‌دنبال آن توسط هیپو کلریت سدیم ۰/۵ درصد به‌مدت ۱۰ دقیقه ضد عفونی شدند. جهت حذف بقایای ماده ضد عفونی‌کننده، ریزنمونه‌ها ۴ بار با آب دو بار تقطیر استریل شسته شدند. محیط کشت MS، حاوی ۳ درصد ساکارز، ۰/۸٪ آگار همراه با تنظیم‌کننده‌های رشد BA در چهار غلظت ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر و سه غلظت ۰/۱، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، تهیه شد. pH محیط کشت قبل از افزودن آگار و اتوکلاو کردن توسط NaOH ۰/۱ مولار بر روی ۵/۸ تنظیم گردید. ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت در ظروف شیشه‌ای توزیع و به‌مدت ۲۰ دقیقه با دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. پس از سرد شدن محیط‌های کشت در هود لامینار، نوک

1. Hancock
2. Mathieu et al.
3. Darnell et al.
4. Biswas et al.
5. Moore et al.
6. Zebrowska et al.
7. Mohan et al.
8. Tian et al.
9. Yonghua et al.
10. Barceló
11. Passey et al.

12. Singh and Pandey
13. Chien-Ying

متقابل رقم و تنظیم کننده رشد BA در سطح ۵ درصد معنی دار شد. ولی اثر رقم و IBA بر روی این صفت معنی دار نشد (جدول ۱). نهرا<sup>۱</sup> و همکاران (۱۹۹۴) نیز گزارش نمودند که تاثیر اثرات متقابل ژنوتیپ و نوع تنظیم کننده رشد گیاهی بر باززایی توت فرنگی متفاوت است.

مقایسه میانگین ها برای ارقام و تنظیم کننده های رشد گیاهی محیط کشت با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح  $P < 0.05$  نشان داد که نوع و غلظت تنظیم کننده های رشد گیاهی بر روی باززایی شاخساره در توت فرنگی موثر هستند. تنظیم کننده های رشد گیاهی اثر معنی داری بر تعداد شاخساره و درصد باززایی شاخساره در همه ارقام داشتند (جدول ۲). نتایج نشان داد که BA به تنهایی سبب باززایی شاخساره در همه ارقام شد. سیتوکنین ها برای کاهش غالبیت انتهایی و افزایش انشعاب جوانه های جانبی استفاده می شوند (دبناث<sup>۲</sup>، ۲۰۰۶). بیشترین تعداد شاخساره شاخساره در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BA حاصل شد. و در غلظت های بیش از ۱ میلی گرم در لیتر و کمتر از ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA باززایی توت فرنگی کاهش یافته و شاخساره کمتری تولید شدند (شکل ۱). بیسوس<sup>۳</sup> و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش دادند که غلظت بالای سیتوکنین تعداد شاخساره را کاهش می دهد. تعداد شاخساره ها در محیط کشت حاوی IBA + BA در مقایسه با محیط های کشت BA به تنهایی بیش تر بودند. هارتمن<sup>۳</sup> (۱۹۹۶) گزارش نمود که هر دو هورمون اکسین و سیتوکنین در اندام زایی مهم هستند و به عنوان تسهیل کننده این فرایند عمل می کنند. نتایج نشان داد که در هر سه رقم بالاترین میزان پاسخ از ترکیب ۱ میلی گرم در لیتر BA + ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر IBA به دست آمد (جدول ۲) که در آن تعداد شاخساره در ارقام کردستان، پاروس و کامارسا به ترتیب برابر ۱۳/۱۳، ۱۰/۷۶ و ۱۲/۱۵ شاخساره در هر ریزنمونه ظاهر شد. سینگ و پاندی (۲۰۰۴) نیز گزارش دادند که اندام زایی شاخساره در ارقام توت فرنگی متفاوت است و عموماً محیط کشت MS همراه با BA و IBA بیشترین باززایی شاخه را تولید می کنند.

وقتی که غلظت IBA از ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر افزایش داده شد، تعداد شاخساره ها کاهش یافت و ریزنمونه ها تمایل به تولید کالوس و ریشه نابجا نمودند. زانگ<sup>۴</sup> و همکاران همکاران (۲۰۰۱) نیز گزارش نمودند که تنظیم کننده های

روندک های استریل دارای جوانه انتهایی (۳-۴ میلی متر) بر روی آن کشت شدند. در هر ظرف چهار ریزنمونه نوک روندک کشت شد و بلافاصله پس از بستن درب شیشه ها، توسط پارافیلیم درب آن ها کاملاً مسدود گردید، تا در اتاقک رشد دچار آلودگی نشوند. سپس کشت ها در اتاقک رشد تحت شرایط ۱۶ ساعت نور فلورسنت سرد و ۸ ساعت تاریکی در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. پس از ۶ هفته تعداد شاخساره ها و درصد ریزنمونه های که تولید شاخساره نمودند ثبت شد. جهت پراوری بیش تر، شاخساره های حاصل از ریزنمونه نوک روندک در محیط کشت MS حاوی BA در سه غلظت ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر همراه با سه غلظت صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی گرم در لیتر  $GA_3$  زیرکشت شدند. در هر ظرف شیشه ای چهار شاخساره کشت شده و در اتاقک رشد تحت شرایط ۱۶ ساعت نور فلورسنت سرد و ۸ ساعت تاریکی در دمای  $25 \pm 2$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند. در این آزمایش ۴ هفته بعد از کشت، تعداد شاخساره ایجاد شده، تعداد شاخساره قابل برداشت در هر ریزنمونه و ارتفاع شاخساره ها ثبت شدند.

داده های حاصل از یادداشت برداری صفات مختلف بر اساس روش آماری فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و تحلیل گردید. مقایسه میانگین داده ها به روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد و برای انجام تجزیه های آماری از نرم افزار SAS استفاده گردید.

## نتایج و بحث

به منظور به دست آوردن یک سیستم کارآمد جهت باززایی شاخساره در توت فرنگی، محیط های کشت مختلف مورد مطالعه قرار گرفت. تجزیه واریانس داده ها اثرات بسیار معنی داری ( $P < 0.01$ ) در هر یک از فاکتورهای اصلی (رقم و تنظیم کننده های رشد) بر روی تعداد شاخساره ریزنمونه نوک روندک و درصد شاخساره باززایی شده نشان داد. اثرات متقابل دوگانه میان این فاکتورها بر تعداد شاخساره ریزنمونه نوک روندک نیز در سطح ۱ درصد معنی دار شد و تنظیم کننده رشد و رقم به طور معنی داری در کارآرایی باززایی شاخساره موثر بودند. در بررسی که توسط مظفری و همکاران (۲۰۰۴) انجام گرفت نشان داده شد که، تعداد شاخه های نابجای تولید شده در ریزنمونه توت فرنگی بستگی به رقم و ترکیبات محیط کشت دارد. اثرات متقابل رقم و نوع تنظیم کننده رشد بر درصد باززایی متفاوت بود. به طوری که اثر

1. Nehra et al.  
2. Debnath  
3. Hartmann  
4. Zhang et al.

اثر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی و پرآوری ...

رشد گیاهی نه تنها غیر اختصاصی شدن و تکثیر و رشد سلول را تنظیم می‌کنند بلکه موجب کنترل اندام‌زایی بافت نیز می‌گردند. نوع و غلظت تنظیم کننده‌های رشد بر روی درصد باززایی ریزنمونه نوک روندک موثر بود و اثر معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بر درصد باززایی شاخساره در همه ارقام داشت. بالاترین درصد باززایی شاخساره‌ها از ترکیب IBA+BA ایجاد شد. وقتی که BA همراه با اکسین مورد استفاده قرار گرفت، در مقایسه با BA به تنهایی، پرآوری بیش‌تری در ریزنمونه مشاهده شد (جدول ۲). محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۲۵ میلی گرم IBA، بیش‌ترین درصد باززایی

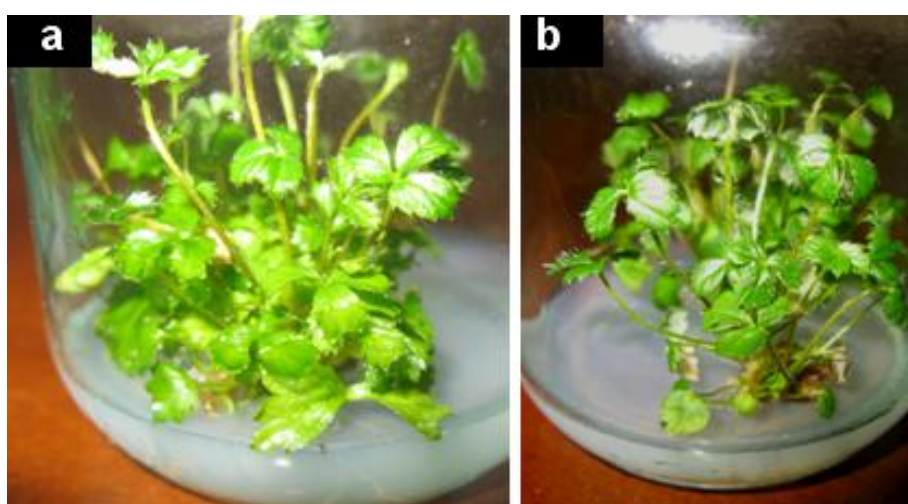
در همه ارقام ایجاد نمود. و این ترکیب به‌طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) کارایی باززایی را افزایش داد. لذا بیش‌ترین درصد باززایی در ریزنمونه‌های ارقام (کردستان، پاروس و کامارسا به‌ترتیب ۹۲/۳۳، ۸۹/۳۳ و ۸۰/۱۶ درصد) در این محیط کشت حاصل گردید. باززایی با استفاده از ۰/۲۵ میلی گرم IBA در ترکیب با غلظت‌های مختلف BA بسیار مناسب بود، ولی غلظت بالای ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA اثر معکوسی بر روی درصد باززایی شاخساره داشت. غلظت‌های کم (۰/۲۵ میلی گرم در لیتر BA) و غلظت‌های بالا (۲ میلی گرم BA) کم‌ترین درصد باززایی را در ریزنمونه‌ها ایجاد نمود.

جدول ۱: تجزیه واریانس اثر تنظیم کننده‌های رشد بر روی تعداد و درصد شاخساره باززایی شده ارقام توت فرنگی (کردستان، پاروس و کامارسا)

Table1: Analysis of variance of growth regulators effects on number and percentage of regenerated shoots of three strawberry cultivars (Kurdistan, Parose and Camarosa)

| (MS)                               |                                      | df  | Source of variance |
|------------------------------------|--------------------------------------|-----|--------------------|
| Percentage of regenerated explants | No of regenerated shoots per explant |     |                    |
| 2011.94**                          | 1.59**                               | 2   | (C) cultivar       |
| 12996.32**                         | 279.02**                             | 3   | BA                 |
| 8288.01**                          | 209.63**                             | 3   | IBA                |
| 99.05*                             | 1.49**                               | 6   | BA×C               |
| 26.04ns                            | 0.60**                               | 6   | IBA×C              |
| 294.01**                           | 17.72**                              | 9   | IBA×BA             |
| 34.37ns                            | 0.48**                               | 18  | IBA×BA×C           |
| 9.55                               | 0.23                                 | 240 | Error              |
| 5.20                               | 5.82                                 | —   | CV                 |

\* and \*\*: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ns: Not significant.



شکل ۱: اثر غلظت تنظیم کننده رشد BA بر تعداد شاخساره باززایی شده در هر ریزنمونه. a - محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA. b - محیط کشت حاوی ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر BA.

Figure 1: Effect of growth regulator concentration of BA on number of regenerated shoots per explant. a) Medium supplemented with 1 mg/l BA, b) Medium supplemented with 0.25 mg/l BA.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد و درصد شاخساره باززایی شده ارقام توت فرنگی (کردستان، پاروس و کاماروسا)

Table2: Analysis of variance of growth regulators effects on number and percentage of regenerated shoots of three strawberry cultivars (Kurdistan, Parose and Camarosa)

| Traits and Cultivars               |                      |                      |                                      |                    |                     | Treatment     |              |
|------------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------------------|--------------------|---------------------|---------------|--------------|
| Percentage of regenerated explants |                      |                      | No of regenerated shoots per explant |                    |                     | IBA<br>(mg/l) | BA<br>(mg/l) |
| Camarosa                           | Parose               | Kurdistan            | Camarosa                             | Parose             | Kurdistan           |               |              |
| 38.00 <sup>qr</sup>                | 36.50 <sup>r</sup>   | 41.16 <sup>pq</sup>  | 2.45 <sup>st</sup>                   | 2.40 <sup>st</sup> | 2.58 <sup>st</sup>  | 0.0           | 0.25         |
| 49.33 <sup>mn</sup>                | 56.33 <sup>jk</sup>  | 62.66 <sup>hi</sup>  | 4.43 <sup>mno</sup>                  | 4.36 <sup>no</sup> | 4.85 <sup>lmn</sup> | 0.0           | 0.5          |
| 66.33 <sup>fgh</sup>               | 69.16 <sup>f</sup>   | 78.50 <sup>de</sup>  | 5.93 <sup>ij</sup>                   | 5.65 <sup>jk</sup> | 6.12 <sup>i</sup>   | 0.0           | 1            |
| 45.50 <sup>no</sup>                | 53.33 <sup>kl</sup>  | 48.83 <sup>mn</sup>  | 3.16 <sup>r</sup>                    | 3.66 <sup>pq</sup> | 3.15 <sup>r</sup>   | 0.0           | 2            |
| 38.33 <sup>qr</sup>                | 48.33 <sup>mno</sup> | 46.50 <sup>no</sup>  | 3.23 <sup>r</sup>                    | 3.00 <sup>r</sup>  | 3.20 <sup>r</sup>   | 0.1           | 0.25         |
| 54.16 <sup>kl</sup>                | 62.50 <sup>hi</sup>  | 67.00 <sup>fg</sup>  | 5.01 <sup>lm</sup>                   | 4.61 <sup>mn</sup> | 5.05 <sup>lm</sup>  | 0.1           | 0.5          |
| 78.66 <sup>de</sup>                | 80.16 <sup>cd</sup>  | 83.33 <sup>c</sup>   | 7.80 <sup>de</sup>                   | 7.01 <sup>ef</sup> | 8.00 <sup>d</sup>   | 0.1           | 1            |
| 55.16 <sup>jkl</sup>               | 56.66 <sup>jk</sup>  | 58.50 <sup>j</sup>   | 4.15 <sup>op</sup>                   | 4.40 <sup>no</sup> | 4.15 <sup>op</sup>  | 0.1           | 2            |
| 55.19 <sup>jkl</sup>               | 67.83 <sup>fg</sup>  | 64.83 <sup>gh</sup>  | 5.15 <sup>klm</sup>                  | 5.02 <sup>lm</sup> | 5.13 <sup>klm</sup> | 0.25          | 0.25         |
| 75.66 <sup>e</sup>                 | 81.83 <sup>cd</sup>  | 83.00 <sup>c</sup>   | 6.88 <sup>g</sup>                    | 6.58 <sup>h</sup>  | 7.06 <sup>fg</sup>  | 0.25          | 0.5          |
| 83.66 <sup>c</sup>                 | 89.33 <sup>b</sup>   | 92.33 <sup>a</sup>   | 12.15 <sup>b</sup>                   | 10.76 <sup>c</sup> | 13.13 <sup>a</sup>  | 0.25          | 1            |
| 59.00 <sup>ij</sup>                | 66.83 <sup>fg</sup>  | 64.83 <sup>gh</sup>  | 5.06 <sup>lm</sup>                   | 5.26 <sup>kl</sup> | 5.01 <sup>lm</sup>  | 0.25          | 2            |
| 30.00 <sup>s</sup>                 | 32.50 <sup>s</sup>   | 39.83 <sup>qr</sup>  | 2.16 <sup>t</sup>                    | 1.81 <sup>u</sup>  | 2.13 <sup>t</sup>   | 0.5           | 0.25         |
| 46.00 <sup>no</sup>                | 51.33 <sup>lm</sup>  | 55.66 <sup>jk</sup>  | 3.10 <sup>r</sup>                    | 2.91 <sup>rs</sup> | 3.13 <sup>r</sup>   | 0.5           | 0.5          |
| 56.16 <sup>jk</sup>                | 67.16 <sup>fg</sup>  | 68.16 <sup>fg</sup>  | 4.95 <sup>lmn</sup>                  | 5.28 <sup>kl</sup> | 5.08 <sup>lm</sup>  | 0.5           | 1            |
| 44.50 <sup>op</sup>                | 51.33 <sup>lm</sup>  | 48.16 <sup>mno</sup> | 2.93 <sup>rs</sup>                   | 3.53 <sup>q</sup>  | 3.11 <sup>r</sup>   | 0.5           | 2            |
| 54.47C                             | 60.89B               | 63.34A               | 4.91C                                | 4.80B              | 5.05A               | میانگین       |              |

Means having the same letter in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5%.

(بوکسوس، ۱۹۹۹ و لیتوینچوک<sup>۴</sup>، ۲۰۰۴) و ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA (بوزنا<sup>۵</sup>، ۲۰۰۱) برای ریزازدیادی توت‌فرنگی توصیه می‌کنند. با این حال، نتایج این پژوهش با پژوهش‌های قبلی کمی متفاوت است. نتایج این بررسی نشان داد که، غلظت یک میلی گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر IBA برای شروع باززایی شاخساره‌ها و تکثیر بیش‌تر آن‌ها مناسب است. این اختلاف ممکن است به تفاوت ژنو تیپ‌ها و وضعیت فیزیولوژیکی ریزنمونه‌ها نسبت داده شود.

نتایج داده‌های جدول (۲) نشان داد که تفاوت کلی در میان توانمندی تمایزیابی ریزنمونه نوک روندک در ارقام مختلف وجود دارد. سینگ و پانندی (۲۰۰۴) نیز گزارش دادند

ایندرا<sup>۱</sup> و همکاران (۲۰۰۰) باززایی شاخساره توت‌فرنگی وحشی هندی را با استفاده از محیط کشت MS همراه با ۴ میلی گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی گرم در لیتر NAA گزارش نمود. برخی از پژوهش‌گران نیز باززایی شاخساره در توت‌فرنگی با استفاده از محیط کشت MS حاوی BA و هم-چنین در ترکیب با کینتین (بوکسوس<sup>۲</sup>، ۱۹۹۹ و نیرو<sup>۳</sup> و همکاران، ۲۰۰۰) گزارش کردند. در حالی که دیگر محققان یک میلی گرم در لیتر IAA + ۱ میلی گرم در لیتر BAP + ۰/۵ میلی گرم در لیتر GA3، ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA + ۰/۱ میلی گرم در لیتر GA3 + ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA

4. Litwińczuk  
5. Bozena

1. Indra *et al.*  
2. Boxus  
3. Neeru *et al.*

متفاوتی به پروتکل باززایی نشان دهند (پاسی و همکاران، 2003).

#### زیرکشت گیاهچه‌های باززایی شده

شاخساره‌های حاصل از ریزنمونه نوک روندک در محیط کشت MS همراه با ترکیبات هورمونی BA در سه غلظت مختلف ۰/۲۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر همراه با سه غلظت صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA<sub>3</sub> کشت شدند. ظرف مدت چهار هفته بعد از کشت، شاخساره‌ها مستقیماً از ریزنمونه‌ها ظاهر شدند و داده‌ها بعد از گذشت ۲۸ روز از کاشت ثبت گردیدند. در این آزمایش تعداد شاخساره ایجاد شده، تعداد شاخساره قابل برداشت و ارتفاع شاخساره‌ها ثبت شد. برای ارزیابی بهترین ترکیب محیط‌های کشت برای تکثیر سه رقم توت‌فرنگی، ۹ تیمار مختلف مورد آزمایش قرار گرفتند.

تجزیه واریانس نشان داد که اثرات معنی‌داری در سطح یک درصد در هر یک از فاکتورهای اصلی (رقم و تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکنین (BA) و جیبرلین (GA<sub>3</sub>) بر روی تعداد شاخساره باززایی شده، تعداد شاخساره قابل برداشت و ارتفاع شاخساره وجود داشت. اثرات متقابل دوگانه میان این فاکتورها و اثر رقم BA×GA بر تعداد شاخساره باززایی شده و تعداد شاخساره قابل برداشت بسیار معنی‌دار ( $P < 0.01$ ) بود. ولی بر روی ارتفاع شاخساره (به استثنای BA×GA) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۴) نشان داد که ۹ محیط کشت ریزازدیدی مختلف بر روی ارتفاع شاخساره، تعداد شاخساره تولید شده و تعداد شاخساره قابل برداشت از نظر آماری متفاوت بودند. این نتایج نشان داد که اختلاف قابل توجهی در میان محیط‌های کشت استفاده شده در این مطالعه وجود دارد و اثر تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد شاخساره تولید شده، تعداد شاخه قابل برداشت و ارتفاع شاخساره در سطح ۵ درصد معنی‌دار بود. این نتایج با گزارش یونگهوا و همکاران (2005) و بیسواس و همکاران (2008) همسو بود. تکثیر شاخساره به‌طور معنی‌داری تحت تاثیر غلظت سیتوکنین استفاده شده قرار گرفت. بهترین پاسخ در غلظت کم BA حاصل شد.

با افزایش غلظت BA از ۰/۲۵ به ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر، درصد تکثیر ریزنمونه و تعداد شاخساره‌ها به تدریج افزایش یافت ولی در غلظت یک میلی‌گرم در لیتر BA، تعداد شاخساره‌ها کاهش پیدا کرد. در میان غلظت‌های مختلف

که اندام‌زایی شاخساره توت‌فرنگی از رقمی به رقم دیگر متفاوت است. واریته‌های قابل کشت توت‌فرنگی تفاوت‌های زیادی در پتانسیل تمایز یابی بافت‌های رویشی آن‌ها، و اثرات تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد در القا این فرآیند نشان داده‌اند، به‌نظر می‌رسد این تفاوت پتانسیل مربوط به فاکتورهای ژنتیکی خاصی باشد (پاسی و همکاران، 2003).

باززایی در ریزنمونه همه ارقام ایجاد و در بین آن‌ها اختلاف معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) مشاهده گردید. رقم کردستان بالاترین سطح باززایی را داشت. اما ارقام کامارسا و پاروس پتانسیل باززایی متوسطی داشتند و این رقم‌ها اغلب ریشه نابجا تولید نمودند. یونگهوا و همکاران (2005) گزارش کردند که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و هورمون‌های درونی در تنظیم رشد و نمو گیاه و مراحل باززایی شاخه نقش کلیدی بازی می‌کنند و اندام‌زایی، یک فرایند فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی پیچیده‌ای است که مرتبط با تغییرات آنزیمی و تنظیم‌کننده‌های رشد درون‌زا می‌باشد (تیان و همکاران، 2003).

این نتایج با گزارش پاسی و همکاران (2003) که اعلام کردند میزان باززایی در رقم‌های مختلف متفاوت می‌باشد، مطابقت دارد. غلظت بالای اکسین درونی ممکن است از باززایی شاخه جلوگیری نماید (کاسلس<sup>۱</sup>، 1979). بالاترین درصد باززایی (۶۳/۳۴ درصد) در رقم کردستان مشاهده شد. در مقابل میزان باززایی در ارقام پاروس و کامارسا نسبتاً کم‌تر بود به‌طوری‌که در رقم پاروس ۶۰/۸۹ و در کامارسا ۵۴/۴۷ درصد ریزنمونه‌ها تولید شاخه نمودند (جدول ۲). نتایج سایر محققان نیز نشان می‌دهد که باززایی گیاهچه بسته به گونه و رقم بسیار متفاوت است و پروتکل باززایی از یک گونه به گونه دیگر و از رقمی به رقم دیگر متفاوت می‌باشد (بارسلو، 1998؛ فین/استاد و مارتین<sup>۲</sup>، 1995 و بیسواس و همکاران، 2008). از نظر تعداد شاخساره نیز در بین ارقام اختلاف معنی‌داری وجود داشت به‌نحوی که در رقم کردستان، پاروس و کامارسا به‌طور متوسط به‌ترتیب ۵/۰۵، ۴/۸ و ۴/۹۱ شاخساره در هر ریزنمونه نوک روندک حاصل شد. اختلاف باززایی در ارقام مختلف، نشانه‌هایی از لینکاژ ژنتیکی است که موجب عدم باززایی می‌گردد، و علت آن اساس ژنتیکی است (پاسی و همکاران، 2003). باززایی در رقم کالیپسو آسان است زیرا باززایی در والدین آن (ارقام راپلا و سلوا) به آسانی رخ می‌دهد (روگینی و اورلاندو<sup>۳</sup>، 1992)، بنابراین ارقام توت‌فرنگی با زمینه‌های ژنتیکی متفاوت ممکن است پاسخ‌های کاملاً

1. Cassells  
2. Finstad & Martin  
3. Rugini & Orlando

کم شاخساره‌ها، تعداد شاخه قابل برداشت در این محیط کشت کاهش یافت. چین-ینگ و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش دادند که غلظت پایین BA طول شاخساره را افزایش داده، اما موجب کاهش تشکیل تعداد شاخساره می‌گردد، ولی با افزایش غلظت BA در محیط کشت، علی‌رغم کاهش ارتفاع، تعداد شاخساره افزایش می‌یابد.

تنظیم کننده‌های رشد مورد استفاده، بیش‌ترین باززایی شاخساره در محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA مشاهده شد. به‌طوری که در ارقام کردستان، پاروس و کاماروسا به‌ترتیب ۳۴/۴۷، ۲۸/۴۶ و ۳۰/۲۵ شاخساره از هر ریزنمونه ایجاد شد (جدول ۴). نتایج نشان داد که بیش‌ترین تعداد شاخساره در این ترکیب حاصل شده ولی به‌دلیل ارتفاع

جدول ۳: تجزیه واریانس اثر تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد شاخساره، تعداد شاخساره قابل برداشت و ارتفاع شاخسار ارقام توت فرنگی (کردستان، پاروس و کاماروسا).

Table3: Analysis of variance of growth regulators effects on number of shoots, harvestable shoots and Shoot height per explant of three strawberry cultivars (Kurdistan, Parose and Camarosa).

| (MS)              |                                      |                          | df  | Source of variance     |
|-------------------|--------------------------------------|--------------------------|-----|------------------------|
| Shoot height (cm) | No of harvestable shoots per explant | No of shoots per explant |     |                        |
| 10.11**           | 21.54**                              | 181.66**                 | 2   | (C) cultivar           |
| 3.65**            | 1458.83**                            | 3213.36**                | 2   | BA                     |
| 124.30**          | 70.50**                              | 746.34**                 | 2   | GA <sub>3</sub>        |
| 0.12ns            | 23.05**                              | 21.10**                  | 4   | BA×C                   |
| 0.12ns            | 12.27**                              | 9.95*                    | 4   | GA <sub>3</sub> ×C     |
| 0.61*             | 11.38**                              | 54.91**                  | 4   | GA <sub>3</sub> ×BA    |
| 0.04ns            | 7.15**                               | 16.75**                  | 8   | GA <sub>3</sub> × BA×C |
| 0.20              | 0.48                                 | 1.67                     | 135 | Error                  |
| 5.44              | 5.35                                 | 6.23                     | –   | CV                     |

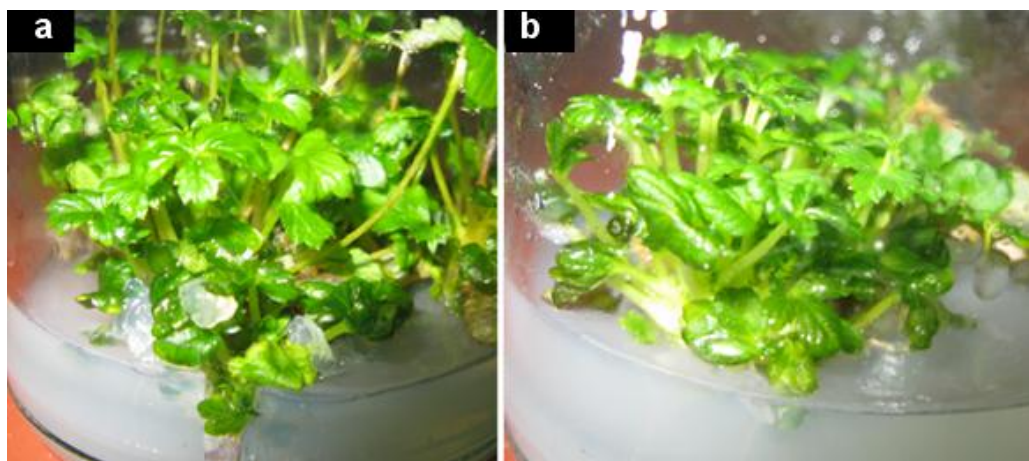
\* and \*\*: significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ns: Not significant

جدول ۴: مقایسه میانگین اثر تنظیم کننده‌های رشد بر تعداد شاخساره باززایی شده، تعداد شاخساره قابل برداشت و ارتفاع شاخسار ارقام توت فرنگی (کردستان، پاروس و کاماروسا)

Table 4: Effect of growth regulators on number of shoots, harvestable shoots and shoot height per explant of three strawberry cultivars (Kurdistan, Parose and Camarosa)

| Traits and cultivars |                     |                     |                                      |                      |                      |                          |                     |                     | Treatment  |           |
|----------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------------|----------------------|----------------------|--------------------------|---------------------|---------------------|------------|-----------|
| Shoot height (cm)    |                     |                     | No of harvestable shoots per explant |                      |                      | No of shoots per explant |                     |                     | GA3 (mg/l) | BA (mg/l) |
| Camarosa             | Parose              | Kurdistan           | Camarosa                             | Parose               | Kurdistan            | Camarosa                 | Parose              | Kurdistan           |            |           |
| 2.68 <sup>ijk</sup>  | 3.24 <sup>fgh</sup> | 2.33 <sup>kl</sup>  | 8.68 <sup>klm</sup>                  | 8.10 <sup>lm</sup>   | 10.10 <sup>jk</sup>  | 12.37 <sup>jk</sup>      | 10.01 <sup>kl</sup> | 16.01 <sup>hi</sup> | 0.0        | 0.25      |
| 3.05 <sup>hij</sup>  | 3.41 <sup>fg</sup>  | 2.51 <sup>jkl</sup> | 18.56 <sup>bc</sup>                  | 17.48 <sup>cd</sup>  | 20.33 <sup>b</sup>   | 30.25 <sup>b</sup>       | 28.46 <sup>bc</sup> | 34.47 <sup>a</sup>  | 0.0        | 0.5       |
| 2.15 <sup>l</sup>    | 2.76 <sup>hij</sup> | 2.05 <sup>m</sup>   | 14.93 <sup>ef</sup>                  | 17.68 <sup>cd</sup>  | 14.55 <sup>efg</sup> | 24.01 <sup>de</sup>      | 26.40 <sup>cd</sup> | 24.35 <sup>de</sup> | 0.0        | 1         |
| 4.38 <sup>e</sup>    | 4.65 <sup>e</sup>   | 3.76 <sup>f</sup>   | 7.40 <sup>lm</sup>                   | 9.06 <sup>kl</sup>   | 10.70 <sup>ij</sup>  | 10.52 <sup>kl</sup>      | 10.61 <sup>kl</sup> | 13.84 <sup>ij</sup> | 0.25       | 0.25      |
| 5.02 <sup>d</sup>    | 5.11 <sup>d</sup>   | 4.41 <sup>e</sup>   | 20.21 <sup>b</sup>                   | 19.15 <sup>bc</sup>  | 22.75 <sup>a</sup>   | 28.96 <sup>bc</sup>      | 22.54 <sup>ef</sup> | 30.50 <sup>b</sup>  | 0.25       | 0.5       |
| 4.28 <sup>e</sup>    | 4.75 <sup>de</sup>  | 3.68 <sup>f</sup>   | 12.78 <sup>gh</sup>                  | 13.95 <sup>fgh</sup> | 14.91 <sup>ef</sup>  | 18.27 <sup>gh</sup>      | 18.02 <sup>h</sup>  | 21.84 <sup>e</sup>  | 0.25       | 1         |
| 6.05 <sup>a</sup>    | 6.20 <sup>a</sup>   | 5.33 <sup>c</sup>   | 7.86 <sup>lm</sup>                   | 10.03 <sup>jk</sup>  | 7.28 <sup>lm</sup>   | 8.39 <sup>l</sup>        | 9.26 <sup>l</sup>   | 10.09 <sup>kl</sup> | 0.5        | 0.25      |
| 5.90 <sup>ab</sup>   | 6.08 <sup>a</sup>   | 5.33 <sup>c</sup>   | 17.63 <sup>cd</sup>                  | 15.95 <sup>de</sup>  | 18.70 <sup>bc</sup>  | 21.80 <sup>ef</sup>      | 20.68 <sup>fg</sup> | 22.92 <sup>ef</sup> | 0.5        | 0.5       |
| 5.48 <sup>bc</sup>   | 5.98 <sup>ab</sup>  | 5.00 <sup>d</sup>   | 12.23 <sup>hi</sup>                  | 12.80 <sup>gh</sup>  | 12.18 <sup>hi</sup>  | 13.78 <sup>ij</sup>      | 14.57 <sup>ij</sup> | 17.91 <sup>h</sup>  | 0.5        | 1         |
| 4.33B                | 4.68A               | 3.82C               | 13.36B                               | 13.80C               | 14.61A               | 21.32A                   | 18.59B              | 17.84C              | Main       |           |

Means having the same letter in traits are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5%.



شکل ۲: اثر نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد بر تعداد و ارتفاع شاخساره باززایی شده. a - محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA همراه با ۰/۲۵ میلی گرم GA<sub>3</sub>. b - محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA.

Figure 2: Effect of type and concentration growth regulators on number of shoots and shoot height. a) Medium containing 0.5 mg/l BA + 0.25 mg/l GA<sub>3</sub>. b) Medium supplemented with 0.5 mg/l BA.

شاخساره) ایجاد نمود. ولی از نظر ارتفاع و تعداد شاخساره در هر ریزنمونه، همبستگی منفی وجود داشت به نحوی که بالاترین ارتفاع شاخساره در رقم پارس (۴/۶۸ سانتی متر) ثبت شد و در مقابل کم‌ترین ارتفاع شاخساره در رقم کردستان (۳/۸۲ سانتی متر) مشاهده شد و از این لحاظ کامارسا (۴/۳۳ سانتی متر) در حد متوسطی بود (جدول ۴). گزارش‌های متعددی نشان می‌دهد که نتایج باززایی گیاهچه بر اساس گونه و رقم بسیار متفاوت است و پروتکل باززایی از گونه‌ای به گونه دیگر و رقمی به رقم دیگر متفاوت می‌باشد (بارسلو، ۱۹۹۸ و فیتستاد و مارتین، ۱۹۹۵). پاسی و همکاران (۲۰۰۳) نیز باززایی هفت رقم تجاری توت‌فرنگی را مورد بررسی قرار دادند، و ثابت نمودند که قابلیت باززایی در بین ارقام متفاوت می‌باشد.

### نتیجه گیری

باززایی شاخساره از ریزنمونه نوک روندک سه رقم تجاری توت‌فرنگی کردستان، پارس و کامارسا در محیط‌های کشت مختلف مورد مطالعه نشان داد که تعداد شاخساره و درصد شاخساره باززایی شده در ریزنمونه توت‌فرنگی بستگی به رقم و ترکیبات محیط کشت داشت. تعداد شاخساره و درصد باززایی شاخساره تحت تاثیر نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد قرار می‌گیرند. به نحوی که در هر سه رقم بالاترین میزان پاسخ از ترکیب یک میلی گرم در لیتر BA + ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر IBA به دست آمد. بر اساس این نتایج، هر دو هورمون اکسین و سیتوکنین در اندام‌زایی مهم

وقتی که GA<sub>3</sub> همراه با BA به کار برده شد تعداد شاخساره افزایش نیافت، اما طول شاخساره افزایش پیدا کرد و باعث افزایش تعداد شاخه قابل برداشت در این محیط کشت گردید. اگر چه تعداد شاخساره‌ها در محیط کشت حاوی BA در مقایسه با محیط‌های کشت حاوی GA<sub>3</sub> + BA بیشتر بودند ولی بیش‌ترین تعداد شاخساره‌های قابل برداشت در هر ریزنمونه و بالاترین میانگین طول شاخساره در ۰/۵ میلی گرم در لیتر BA + ۰/۲۵ میلی گرم در لیتر GA<sub>3</sub> ثبت شد (شکل ۲). تجزیه واریانس داده‌ها تفاوت بسیار معنی‌داری ( $P < 0.01$ ) از نظر ارتفاع شاخساره، تعداد شاخساره باززایی شده و تعداد شاخه قابل برداشت در میان ارقام مورد مطالعه نشان داد، به نحوی که این صفات به‌طور قابل ملاحظه‌ای تحت تاثیر رقم قرار گرفتند (جدول ۳). یانگه‌ها و همکاران (۲۰۰۵) نیز گزارش نمودند که مقدار هورمون‌های درون‌زا به ژنوتیپ بستگی دارد و رابطه مستقیمی بین مقادیر هورمون‌های درون‌زا و تمایزبایی جوانه نابجا وجود دارد، به‌طوری که غلظت معینی از GA<sub>3</sub> و زآئین باززایی جوانه‌های نابجا را تحریک می‌کنند و غلظت بالای اکسین درونی ممکن است از باززایی شاخساره جلوگیری نماید.

از نظر تعداد شاخساره ایجاد شده، تعداد شاخساره قابل برداشت و ارتفاع شاخساره‌ها اختلاف معنی داری در بین ارقام مشاهده گردید. به‌طوری که بیش‌ترین تعداد شاخساره در رقم کردستان (۲۱/۳۲ شاخساره در هر ریزنمونه) ایجاد شد، کامارسا از این نظر پتانسیل متوسطی داشت (۱۸/۵۹ شاخساره) و پارس تعداد شاخساره کم‌تری (۱۷/۸۴)

غلظت پایین BA نیز طول شاخساره را افزایش، اما موجب کاهش تشکیل تعداد شاخساره گردید. وقتی که  $GA_3$  همراه با BA به کار برده شد تعداد شاخساره بیش تر نشد، اما طول شاخساره افزایش یافته و باعث افزایش تعداد شاخه قابل برداشت در این محیط کشت گردید.

هستند و به عنوان تسهیل کننده این فرایند عمل می کنند. اما در زیرکشت شاخساره ها استفاده از اکسین همراه با سیتوکنین مناسب نبود، زیرا در این مرحله هدف تولید شاخه های جانبی از محور برگ ها بود. در این خصوص BA به تنهایی بهترین عملکرد بر روی تکثیر شاخساره و بیش ترین تعداد شاخساره داشت ولی به دلیل ارتفاع کم شاخساره ها، تعداد شاخه قابل برداشت در این محیط کشت کاهش یافت.

- Barceló, M., El-Mansouri, I., Mercado, J. A., Quesada, M. A. and Alfaro, F. P. 1998. Regeneration and transformation via *Agrobacterium tumefaciens* of the strawberry cultivar Chandler. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 54: 29-36.
- Bhatt, I. D. and Dhar, U. 2000. Micropropagation of Indian wild strawberry. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 60: 83-88.
- Biswas, M. K., Islam, R. and Hossain, M. 2008. Micro propagation and field evaluation of strawberry in Bangladesh. *Journal of Agricultural Technology*. 4(1): 167-182.
- Boxus, P. 1999. Micropropagation of strawberry via axillary shoots proliferation. In: *Plant Cell Culture Protocols. Methods in Molecular Biology. Part III. Plant Propagation In Vitro*. Hall R. D. (ed.) Humana Press Inc., Totowa NJ. 11: 103-114.
- Bozena, B. 2001. Morphological and phylosiological characteristics of micropropagated strawberry plants rooted *in vitro* or *ex vitro*. *Scientia Horticulture*. 89: 195-206.
- Cassells, A. C. 1979. The effect of 2,3,5-tri-iodobenzoic acid on caulogenesis in callus cultures of tomato and *Pelargonium*. *Physiol Plant*. 46:159-164.
- Chien-Ying, K., Al-Abdulkarim, A. M., Al-Jowid, S. M. and Al-Baiz, A. 2009. An effective disinfection protocol for plant regeneration from shoot tip cultures of strawberry. *African Journal of Biotechnology*. Vol. 8 (11): 2611-2615.
- Darnell, R. 2003. *Strawberry Growth and Development*. The strawberry. Ed. Childers. Childer's pub. Gainesville, FL. 219 pp.
- 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.
- Finstad, K. and Martin R. R. 1995. Transformation of strawberry for virus resistance. *Acta Horticulturae*. 385: 86-90.
- Hancock, J. F. 1999. *Strawberries*. CABI Publishing, New York, NY. 237pp.
- 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.
- Indra, D. and Uppeandra, D. 2000. Micropropagation of Indian wild strawberry. *Plant cell and Organ Culture*. 60(2): 83-88.
- Litwińczuk, W. 2004. Field performace of 'Senga Sengana' strawberry plants (*Fragaria × ananassa* Duch.) obtained by runners and *in vitro* through axillary and adventitious shoots. *Electronic Journal of Polish agricultural Universities, Horticulture*. 7: 1 -3.
- Mathieu, R. G., Estelle, L. K., Laure, B., Daniel, J. S., Amparo, M., David, S., Pere, A., Guy, G. and Be'atrice D. R. 2008. Comparative genetic mapping between octoploid and diploid *Fragaria* species reveals a high level of colinearity between their genomes and the essentially disomic behavior of the cultivated octoploid strawberry. *Genetics Society of America*. 179: 2045-2060.
- Mohan, R., Chui, E. A., Biasi, L. A. and Soccol, C. R. 2005. Alternative *in vitro* propagation: use of sugarcane bagasse as a low cost support material during rooting stage of strawberry cv. Dover. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48:37-42.
- Morozova, T. 2002. Genetic stability of Pure lines of *Fragaria vesca* L in micropropagation and long-term storage *in vitro*. *Acta Horticulture*. 567: 85-87.
- Moore, P. P., Robbins, J. A. and Sjulín, T. M. 1991. Field performance of 'Olympus' strawberry subclones. *HortScience*. 26: 192-194.
- Mozafari, A. A. and Kostin, A. K. 2004. Ability to produce of new strawberry hybrid plants and somaclons. *TCXA.(izvestia)*. 58: 69-75.
- Neeru, S., Ranjan, S., Singh, O. S. and Gosal, S. S. 2000. Enhancing micropropagation efficiency of strawberry using bandage in liquide media. *Jour. Appl. Hort*. 2(2): 92-93.
- Nehra, N. S., Kartha, K. K., Stushnoff, C. and Giles, K. L. 1994. Effect of *in-vitro* propagation methods on field performance of 2 strawberry cultivars. *Euphytica*. 76 (1-2): 107-115.
- Passey, A. J., Barrett, K. J. and James, D. J. 2003. Adventitious shoot regeneration from seven commercial strawberry cultivars (*Fragaria × ananassa* Duch.) using a range of explant types. *Plant Cell Reports* 21, 397-401.
- Rugini, E. and Orlando, R. 1992. High efficiency shoot regeneration from calluses of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) stipules of *in vitro* cultures. *J. Hort. Sci*. 67 (4): 577-582.
- Singh, A. K. and Pandey, S. N. 2004. Genotypic variation among strawberry cultivars for shoot organogenesis. *Acta Horticulturae*. 662: 277-280.
- Tian, M., Gu, Q. and Zhu, M. Y., 2003. The involvement of hydrogen peroxide and antioxidant enzymes in the process of shoot organogenesis of strawberry callus, *Plant Sci*. 165: 701-707.
- Yonghua, Q., Shanglong, Z., Asghar, S., Lingxiao, Z., Qiaoping, Q., Kunsong, C. and Changjie, X. 2005. Regeneration mechanism of Toyonoka strawberry under different color plastic films. *Plant Sci*. 168: 1409-1424.
- Zebrowska, J. I, Czernas, J., Gawronski, J. and Hortynski, J. A. 2003. Suitability of strawberry (*Fragaria × ananassa* Duch.) microplants to the field cultivation. *Food, Agriculture and Environment*. 1: 190-193.
- Zhang, C. L., Chen, D. F., Elliott, M. C. and Slater, A. 2001. Thidiazuron-induced organogenesis and somatic embryogenesis in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *In vitro Cellular and Development Biology- Plant*. 37:305-310.

## Effect of Different Concentrations of Growth Regulators on Shoot Regeneration and Proliferation in Strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) Cultivars

Gerdakaneh<sup>1\*</sup>, M., Mozafari<sup>2</sup>, A. A. and Gholami<sup>3</sup>, R.

### Abstract

This study was carried out for shoot regeneration and proliferation of three strawberry cultivars runner tip. Sterile runner tips' having terminal buds (4-5 mm) of Kurdistan, Parose and Camarosa cultivars were cultured onto MS media with different concentrations (0.25, 0.5, 1 and 2 mg/l) of benzyl adenine (BA) alone or supplemented with IBA (0.1, 0.25 and 0.5 mg/l) growth regulator for the above purpose. The type and concentration of growth regulators and cultivar were found critical to shoot regeneration. The highest response of shoot multiplication was obtained in MS containing 1 mg/l BA + 0.25 mg/l IBA. This combination yielded the highest shoot number and percent of regeneration from Kurdistan (13.13 shoots and 92.33% regeneration), Parose (10.76 shoots and 89.33% regeneration) and Camarosa (12.15 and 80.16%) cultivars. For proliferation, four-week-old shoots were removed from the culture, and subcultured on MS basal medium supplemented with various levels of BA (0.25, 0.5 and 1 mg/l) alone or in combination with GA (0.0, 0.25 and 0.5 mg/l). Best response towards multiple shoot regeneration (Kurdistan 34.47, Parose 28.46 and Camarosa 30.25 shoots) was obtained on MS medium having 0.5 mg/l BA. While the highest harvestable shoots was recorded (Kurdistan 21.32, Parose 17.84 and Camarosa 18.59 shoots) in MS containing 0.5 mg/l BA + 0.25 mg/l GA.

**Keywords:** Strawberry, Runner tip, Explant, Regeneration, Growth regulators

---

1 and 3. Reasercher and Scientific Staff Member of Agricultural and Natural Resource Research Center of Kermanshah.

2. Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan.

\*: Corresponding author      Email: mgerdakaneh@gmail.com

