# کشت درون شیشه ای پایه گارنم

**زهرا شیخ*[۱]، اعظم جعفری[۲]، کاظم کمالی[۳]**
[۱،۲*]گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران
[۳] دانشگاه یزد، یزد، ایران
*نویسنده مسئول:zahra.shekh@gmail.com

## چکیده

در سال‌های اخیر با توجه به شرایط محیطی نقطه‌های مختلف میوه‌کاری کشور، تعدادی پایه‌های هم‌گروه برای هسته‌دارها به کشور وارد شده است و بر همین اساس به نهالستان‌ها توصیه‌شده که از این پایه¬ها استفاده شود. یکی از پایه¬های هم‌گروه که به‌تازگی معرفی شده پایه گارنم یا GN15 است. این پایه از تلاقی پایه بادام"گارفی" به‌عنوان والد مادری با پایه هلوی" نمارد" به‌عنوان گرده‌دهنده به دست‌آمده است. هد ف از این تحقیق نیز تکثیر این پایه از طریق کشت بافت می‌باشد. در مرحله شاخه‌زایی از محیط WPM استفاده شد. تیمارهای هورمونی شامل BA در ۷سطح (۰، ۰/۱، ۰/۷، ۱/۳، ۱/۹، ۲/۱ و ۲/۵ میلی گرم در لیتر) و IBA۰/۱ درصد بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد بهترین شاخه–زایی در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین به‌دست آمد. در مرحله ریشه‌زایی از محیط LS شامل IBA در ۴ سطح (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵) میلی‌گرم درلیتر همراه با تاریکی به مدت ۱۰ روز بود بهترین ریشه‌زایی در محیط کشت LS با ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر IBA به‌دست آمد.

**واژه‌های کلیدی:** پایه رویشی، کشت بافت، گارنم

## مقدمه

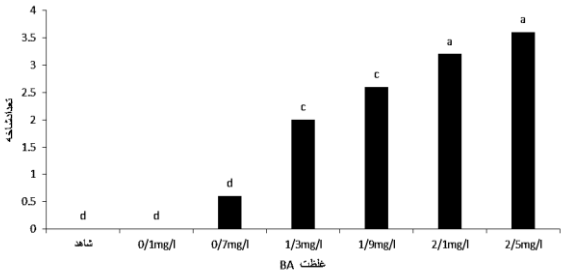
با توجه به نقش پایه در میزان رشد رویشی، زودرسی، میزان عملکرد و مقاومت به بیماری‌ها، انتخاب پایه مناسب نقش بسزایی در برنامه مدیریت باغ خواهد داشت. به‌طورکلی پایه‌های درختان میوه به دو روش جنسی و غیرجنسی تکثیر می‌شوند ولی با توجه به اینکه در تکثیر جنسی تفرق صفات حاصل شده و نهال‌های حاصله از نظر خصوصیات ژنتیکی تغییر می‌یابند، از چند دهه پیش سعی بر این است تا از روش تکثیر غیرجنسی برای توسعه باغات میوه استفاده شود (هارتمن و کستر، ۱۹۹۹) یکی از پایه‌های هم‌گروه که به‌تازگی معرفی شده پایه گارنم یا GN15 است. این پایه از تلاقی پایه بادام"گارفی" به‌عنوان والد مادری با پایه هلوی" نمارد" به‌عنوان گرده‌دهنده به‌دست‌آمده است. گارنم سازگاری خوبی با رقم‌های مختلف بادام، هلو و شلیل دارد. رقم‌هایی که روی این پایه پیوند می‌شوند، پر رشدتر از پایه GF677 هستند و برای جلوگیری از سایه‌اندازی درخت روی میوه‌ها به هرس تابستانه نیاز دارند. این پایه به شرایط خشک، خاک‌های فقیر، شرایط غرقابی، کم سبزینگی ناشی از کمبود آهن و نماتد متحمل است (فلیپ و همکاران،۲۰۰۹). در این میان پایه GN15 از مهم‌ترین، متداولترین و کاربردترین پایه می‌باشد. هیبریدهای هلو و بادام جهت مقاومت به کمبود آهن ناشی از آهک در بسیاری از کشورها به‌خصوص کشورهای حوزه مدیترانه به صورت گسترده‌ای استفاده می‌شود. از دیگر خصوصیات این پایه‌ها، سازگاری خوب با هلو و بادام می‌باشد (مورینو و همکاران،۱۹۹۴). این پایه‌ها اغلب قوی بوده و برای خاک‌های خشک و فقیر مناسب می‌باشد و در حذف و جایگزینی باغات نیز می‌تواند استفاده شود (سوسیاس و همکاران، ۱۹۹۵). در کشور ما نیز در سال‌های اخیر اقداماتی در جهت استفاده از پایه‌های رویشی در تولید نهال درختان میوه انجام شده و تمایل روزافزونی جهت استفاده از نهال‌های پیوند شده بر روی پایه‌های رویشی در بین باغداران و تولیدکنندگان میوه وجود دارد.یکی از موانع کشت و کار درختان میوه با استفاده از پایه‌های رویشی در ایران محدودیت دسترسی به این نوع نهال‌ها به‌دلیل موانع و مشکلات تولید این نهال‌ها می‌باشد. ازمشکلات عمده کشت و پرورش میوه‌ها به‌ویژه هلوو بادام عدم استفاده از پایه‌های کلونی موجود مثل GN15 و در دسترس نبودن آن به‌دلیل مشکل تکثیر آن در ایران، به ناچار از پایه¬های بذری استفاده می‌شود که این پایه¬ها به دلیل عدم یکنواختی و ناهمرسی میوه‌ها مشکلات عدیده‌ای را برای باغداران ایجاد می‌نماید. لذا در دسترس بودن پایه‌های کلونی نظیر GN15 به‌صورت انبوه و با ساده‌ترین روش تکثیر احساس می‌شود لذا این پژوهش در راستای دستیابی به این هدف اجرا می‌شود.

## مواد و روش‌ها

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی در تیمارهای مختلف و چند تکرار در مرحله پرآوری و ریشه‌زایی انجام گرفت. بعد از مرحله پرآوری نمونه‌ها به محیط ریشه زایی منتقل شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS در سطح ۵ درصد انجام شد و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. استقرار نمونه‌ها در محیط کشت WPM به همراه BA 1/0 و ۳۰ گرم ساکارز و ۸ گرم آگار انجام شد. معمولاً از قطعات ساقه که دارای جوانه‌های انتهایی و جانبی هستند به‌عنوان ریزنمونه برای تکثیر استفاده می‌شود. پس از کشت و نگه‌داری گیاهچه‌ها در شرایط مناسب برای رشد واکشت نمونه‌ها هر ۲۵ روز یک بار انجام شد و در واکشت سوم نمونه‌ها به محیط شاخه‌زایی انتقال یافت. مرحله شاخه‌زایی با استفاده از محیط کشت WPM در قالب طرح کاملاً تصادفی با تیمارهای مختلف هورمونی BAP در ۷ سطوح (۰، ۰/۱، ۰/۷، ۱/۳، ۱/۹ ،۱/ ۲و۲/۵) به همراه ۰/۱ درصد IBA در ۵ تکرار انجام شد. شاخساره‌های به دست آمده در مراحل قبلی، در محیط LS دارای ۴ سطح هورمون IBA (۰، ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) ریشه‌دار می شود. این مرحله بسته به گونه ممکن است ۲ تا۴ هفته یا بیشتر طول بکشد.

## نتایج و بحث

براساس نتایج این پژوهش اثر تیمار بنزیل آدنین بر تعداد شاخه در سطح یک درصد معنی دار بود. براین اساس بالاترین تعداد شاخه در تیمار ۲/۵ و ۱/۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد و در تیمار شاهد و ۰/۱ میلی گرم در لیتر بنزیل آدنین هیچگونه شاخه‌ای تولید نشد (شکل ۱). نتایج حاصل از تجزیه آماری در جدول نشان داده شده است. مشخص گردید که بهترین تیمار جهت شاخه‌زایی استفاده از هورمون BAP به غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر با میانگین ۴-۳ شاخه در هر شیشه بود. در خصوص نقش غلظت هورمون‌ها در میزان شاخه‌زایی بررسی آزمایش‌ها به این گونه صورت گرفت که در برخی از تیمارهای مورد بررسی گیاهچه‌ها زرد شده و از بین رفته‌اند و در برخی دیگر کاهش غلظت BA باعث رشد طولی گردید. در این پژوهش برای هر تیمار ۵ تکرار وجود داشت که شاخه‌های ایجاد شده در هر شیشه در هریک از تیمارها جداگانه شمارش و یادداشت برداری شد و مشخص گردید که وقتی غلظت BA از یک حدی بیشتر شود، گیاه به‌دلیل جذب زیاد سیتوکنین از حالت طبیعی خارج شده و گیاه به‌صورت فشرده میشود و این گیاهچه‌های تولید شده دیگر قابل واکشت نخواهد بود و مشخص گردید که غلظت کم BA فقط رشد طولی گیاه را به همراه خواهد داشت به دلیل اینکه باعث افزایش غلبه انتهایی می‌شود که این نتیج به دست آمده با نتایج کمالی و همکاران (۱۳۸۰) مطابقت دارد با این تفاوت که آنها از محیط Knop جهت شاخه‌زایی استفاده نمودند. ساری¬خانی و همکاران (۱۳۹۲) از هورمون‌های دیگری جهت شاخه‌زایی استفاده نمودند. آنها از تیمارهای ترکیبی BAP ، کینتین و نفتالین استیک اسید استفاده کردند و به این نتیجه رسیدند که اساس به‌دست آمدن نمتیجه مختلف در سایتوکنین‌های مختلف، تفاوت در جذب سیتوکنین‌ها توسسط سلول‌های گیاهی، شناسایی آنها توسط سلول و راه‌کار عمل آنهاست و استفاده از BA برای ریزافزایی هسته‌دارها در محیط کشت مناسب شناخته شده و اثر خود را در ترکیب با اکسین نشان می‌دهد. در پژوهش عرفانی و همکاران (۱۳۹۴) بیشترین میزان شاخه‌زایی در محیط DKW همراه با ۲ میلی‌گرم درلیتر BA به دست آمدو بیشترین طول شاخه در هر نمونه در محیط WPM که شامل ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA بود، مشاهده گردید.




شکل ۱- تاثیر تیمار بنزیل آدنین بر تعداد شاخه.

در مرحله ریشه‌زایی بیشترین تعداد ریشه در محیط WPM دارای ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد و کمترین تعداد ریشه در محیط فاقد تنظیم کننده رشد حاصل شد (جدول ۱). طویل ترین ریشه نیز در محیط دارای ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد و کوتاهترین ریشه در محیط دارای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر اکسین ایندول بوتیریک اسید حاصل شد (جدول ۱).

**جدول۱- مقایسه میانگین سطوح مختلف IBA بر تعداد و طول ریشه.**

| غلظت تیمار (میلی‌گرم در لیتر) | تعداد ریشه | طول ریشه |
|---|---|---|
| **۱/۵** | ۲/۷۵$^{a}$ | ۵/۵۸ $^{a}$ |
| ۱ | ۲$^{a}$ | ۳/۰۰$^{b}$ |
| **۰/۵** | ۱$^{b}$ | ۱/۹۵$^{b}$ |
| ۰ | ۰$^{c}$ | ۰$^{c}$ |

شانجانی (۲۰۰۳) گزارش کرد که نیترات و آمونیوم منبع اصلی نیترات در محیط کشت است ولی نیترات به دلیل سهولت در جذب و غیرسمی بودن نسبت به آمونیوم منبع بهتری از نیتروژن می‌باشد. باتوجه به اینکه محیط کشت‌های مختلف از نظر نوع و غلظت بعضی املاح و ترکیبات با یکدیگر متفاوت می‌باشند، بنابراین رشدو نمو ریزنمونه‌های مستقر شده روی این محیطها با یکدیگر متفاوت بوده که با شناخت این تفاوت‌ها می‌توان محیط مطلوب برای هدف مورد نظر را شناسایی کرد. کمالی و همکاران (۲۰۰۶) تأثیر دو محیط کشت MS و Knop را روی تکثیر و قدرت جوانه‌زنی GF677 مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین دو محیط برای صفات مورد مطالعه وجود دارد. این محققان برتری محیط کشت Knop در مقایسه با محیط کشت MS را برای تکثیر جوانه و طویل شدن آن‌ها در تیمارهای متناظر از نظر نوع و غلظت هورمون گزارش کردند. رحمن و همکاران (۲۰۱۴) برای استقرار ، شاخه‌زایی و ریشه‌زایی گلابی از سه محیط کشت MS, MS1/2 وwpm استفاده کردند. نتایج نشان داد که محیط کشت WPM از نظر صفات درصد شاخه‌زایی، تعداد و طول ساقه نسبت به سایر محیط کشت‌های مورد مطالعه برتری داشت. در حالیکه بیشترین ریشه‌زایی در محیط کشت MS1/2 حاصل شد. ساریخانی و همکاران (۱۳۹۲) برای ریشه دار شدن پایه‌های GN15 از دو محیط کشت MS و MS1/2 همراه با غلظت‌های مختلف ایندول بوتیریک اسید (IBA) استفاده کردند. درصد آغازش ریشه و متوسط تعداد ریشه در هر ریزنمونه در محیط کشت MS تکمیل شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و متوسط طول ریشه و اندازه پینه در محیط کشت MS1/2 تکمیل شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و درصد پینه‌زایی در محیط کشت MS1/2 تکمیل شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین مقدار بود. عرفانی و همکاران (۱۳۹۴) برای ریشه‌زایی پایه گارنم سه محیط کشت MS1/2، WPM1/2 و DKW1/2 شامل ۱، ۲ و ۳ میلی‌گرم در لیتر IBA که با سوربیتول تکمیل شده بودند را مورد بررسی قرار دادند و نتایج نشان داد که بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت MS1/2 به دست آمد که دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بود.

## منابع


ساری خانی، ح. کریمی، م. غلامی، م. (۱۳۹۳). بررسی شاخه‌زایی و ریشه‌زایی پایه دورگه بادام و هلو (GN15). مجله علوم و فنون باغبانی ایران، جلد ۱۵، ۴: ۴۹۶-۴۸۳

کمالی،ک. مجیدی، ا. ضرغامی، ر. (۱۳۸۰). تعیین مناسب‌ترین محیط کشت و شرایط رشد جهت ریز ازدیادی پایه‌های رویشی GF677 (هیبرید هلو، بادام). نهال و بذر، ۱۷ :۲۴۳-۲۳۴

Erfani, M., Miri, M., and Imani, A. 2017. Plant cell biotechnology and molecular biology 18(3&4):101 -109.

Felipe, A.J. 2009. Felinem, Garnem, and Monegro almond x peach hybrid rootstocks. Hort Science, 44:196-197.

Kamali, K., Majidi, E., Zarghami, R. 2006. Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus*×*P. persica*). Plant Genetic and Breeding, 56: 175-177.

Shanjani, PS. 2003. Nitrogen effects on callus induction and plant regeneration of *Juniperus excelsa*. Int. J. Agri. Biol, 5: 419-422.

Sotiropoulos, T.E, and Fotopoulos, S. 2005. In vitro propagation of the PR 204/84 peach rootstock (*Prunus persica* × *P. amygdalus*): The effect of BAP, GA3, and activated charcoal on shoot elongation. Europ.J.Hort.Sci, 70 (5): 253–255.

Rehman, H.U., Gill, M.I.S., Dhillon, W.S, and Bedi, S. 2014. Micropropagation of Pathernakh (*Pyrus pyrifolia* (Burm F.) Nakai) pear using explants obtained from forced cuttings. International Journal of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, 2 (2): 54-65.

## In vitro culture of Garnem rootstock

### Abstract

In recent years, due to the environmental conditions of different fruit growing points in Iran, a number of rootstocks for stone fuits have been imported into the country, and accordingly, nurseries have been advised to use these rootstocks. The newly introduced rootstock is Garnem. The purpose of this study is to propagate this rootstock through tissue culture. WPM medium was used in the proliferation stage. Hormonal treatments included BA at 7 levels (0, 0.1, 0.7, 1.3, 1.9, 2.1 and 2.5 mg / l) and 0.1% IBA in a completely randomized design with 5 replications. The results showed that the best proliferation was obtained at a concentration of 2.5 mg / l BA. In the rooting stage LS medium containing IBA at 4 levels (0, 0.5, 1, 1.5) mg / l with darkness for 10 days was used. The best rooting in LS medium with 1.5 mg /L IBA was obtained.

Keywords: Garnem, Tissue culture, Vegetative rootstock