

## بررسی ریزازدیادی تعدادی از پایه های رویشی درختان میوه هسته دار

سید اصغر موسوی (۱)، مریم تاتاری (۲)، ناصر بوذری (۳)

۱- عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی شهرکرد، ۲- دانشجوی دکتری دانشگاه گیلان، ۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر

با توجه به اهمیت روز افزون پایه های رویشی و به منظور گسترش و توسعه استفاده از پایه های رویشی در درختان میوه هسته دار، در این پژوهش از دیاد پایه های رویشی درختان میوه هسته دار شامل پایه های رویشی تترا، نماگارد و GF677 با استفاده از روش درون شیشه ای مورد ارزیابی قرار گرفت. در ابتدا ریزنمونه های جوانه انتهایی و جوانه های جانبی پایه های مورد مطالعه، گندздایی شده و در شرایط درون شیشه ای و در محیط های کشت MS تغییر یافته، WPM و Knop قرار گرفتند. نتایج حاصل از نوع پایه نشان داد که به ترتیب پایه های رویشی تترا، GF677 و نماگارد بیشترین تعداد گیاهچه و پایه های تترا، نماگارد و GF677 بیشترین طول گیاهچه را تولید کردند. پایه رویشی نماگارد در محیط کشت Knop هیچ پرآوری را به همراه نداشت. محیط کشت Knop منجر به ایجاد کلروز و نکروز در پایه های تترا و نماگارد شد. هر سه پایه در محیط کشت MS تغییر یافته، بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کردند، لذا تیمار ترکیب تنظیم کننده های رشد در محیط کشت MS تغییر یافته مورد ارزیابی قرار گرفت. از بین ترکیبات مختلف تنظیم کننده های رشد، پایه های رویشی مورد مطالعه در محیط MS1 (۰/۶ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA) بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کردند. افزایش غلظت تنظیم کننده های رشد منجر به شیشه ای شدن و تولید کالوس در پایه GF677 شد. در هر سه پایه بیشترین تعداد ریشه در محیط کشت MS تغییر یافته با ۱ میلی گرم در لیتر NAA حاصل شد و پایه تترا بیشترین تعداد و طول ریشه را تولید کرد. در نهایت پایه های ریشه دار شده در اتاق سازگاری به محیط کشت پیت و پرلیت منتقل شدند.

**کلمات کلیدی:** پایه رویشی، هسته دار، کشت درون شیشه ای

**مقدمه:**

اغلب پایه های مورد استفاده برای درختان میوه هسته دار در ایران بذری و غیر یکنواخت بوده و درختان روی این پایه ها از نظر رشد رویشی، میزان عملکرد و مقاومت در برابر آفات و بیماری ها یکسان نیستند، لذا ضروری است نسبت به ازدیاد این پایه ها به صورت همگرده اقدام گردد. یکی از روش های ازدیاد سریع ارقام و پایه های مطلوب، استفاده از کشت درون شیشه ای اندام های مختلف گیاهان است. در محیط کشت MS<sup>۲۰</sup> با نصف غلظت عناصر میکرو، رشد گیاهچه های گیلاس افزایش پیدا کرد (Ruzic et al., 2003). ریشه زایی مطلوب برای پایه سیب EMLA111 در محیط کشت نصف MS با ۰/۵ میلی گرم در لیتر IBA، ۲ درصد ساکارز و ۰/۴ درصد آگار به دست آمد (Modgil et al., 2010). پایه رویشی تترا با پیوندک های هلو، شلیل، زردآلو، آلو و بادام به خوبی سازگار است (Silva et al., 2003). نماگارد به عنوان پایه برای بادام، هلو و شلیل، زردآلو و آلو به کار می رود (رادنیا، ۱۳۷۵). در این پژوهش از دیاد درون شیشه ای این دو پایه با پایه رویشی GF677 مورد مقایسه و ارزیابی قرار گرفت.

**مواد و روش ها:**

پایه ها از کلکسیون پایه های رویشی تترا، نماگارد و GF677 درختان میوه هسته دار واقع در ایستگاه تحقیقات کمال آباد بخش تحقیقات باگبانی تهیه شدند. در ابتدا ریزنمونه های جوانه انتهایی و جوانه های جانبی پایه های مورد مطالعه گندздایی

شده و در شرایط درون شیشه‌ای و در محیط کشت MS تغییر یافته، Knop<sup>۲۱</sup> و BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA قرار گرفتند. پایه‌های استقرار یافته به منظور پرآوری در همین محیط‌ها بازکشت شدند. پس از انتخاب بهترین محیط کشت، گیاهچه‌ها به غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد BAP و NAA برده شدند تا بهترین ترکیب هورمونی تعیین شود. به منظور ریشه زایی نیز از محیط کشت MS تغییر یافته حاوی ۱ میلی گرم در لیتر IBA و یا ۱ میلی گرم در لیتر NAA استفاده شد. گیاهچه‌ها پس از قرار گرفتن در محیط کشت ریشه زایی، به مدت یک هفته در شرایط اتاق رشد تاریک قرار گرفتند و پس از آن به شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. گیاهچه‌های ریشه دار شده در اتاق سازگاری به محیط کشت پیت و پرلیت منتقل شدند. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در پایه طرح کاملاً تصادفی به اجرا درآمد.

#### نتایج و بحث:

بیشترین تعداد و طول گیاهچه باززایی شده را پایه رویشی تترا در محیط کشت MS تغییر یافته تولید کرد و در سطح a قرار گرفت. پایه رویشی نماگارد در محیط کشت Knop هیچ گونه پرآوری را به همراه نداشت.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر مقابل پایه رویشی و محیط کشت بر صفات مورد اندازه گیری  $\pm$  SD

پایه رویشی	محیط کشت	میانگین تعداد گیاهچه باززایی شده	میانگین طول گیاهچه باززایی شده
GF677	Knop	۰/۲۲ef <sup>۲۲</sup> ± ۰/۰۲	۰/۲۵e ± ۰/۰۲۴
GF677	MS	۲/۲۲b ± ۰/۰۹	۱/۴۷c ± ۰/۰۴۱
GF677	WPM	۰/۴۴e ± ۰/۰۳۳	۰/۲۵e ± ۰/۰۲۴
نماگارد	Knop	۰f ± ۰	۰e ± ۰
نماگارد	MS	۱/۲۲c ± ۰/۰۱۵	۲/۷۷b ± ۰/۰۲۶
نماگارد	WPM	۰/۷۷d ± ۰/۰۴۴	۱/۱۶d ± ۰/۰۵۷
تترا	Knop	۰/۴۴e ± ۰/۰۳۳	۰/۲۷e ± ۰/۰۲۲
تترا	MS	۵/۱۱a ± ۰/۰۴۶	۳/۵۲a ± ۰/۰۲۱
تترا	WPM	۱/۳۳c ± ۰/۰۱۸	۱/۵۵c ± ۰/۰۱۴

محیط کشت می‌تواند در رشد درون شیشه‌ای گیاهان بسیار موثر باشد (Pilar and Marin, 2005). به گزارش روزیک و همکاران (Ruzic et al., 2003) در کشت درون شیشه‌ای، ترکیب محیط کشت روی رشد گیاهچه موثر است و این تاثیر در اثر ترکیب نمک‌های موجود در محیط کشت ایجاد می‌شود. به طور کلی با توجه به اینکه، محیط کشت MS تغییر یافته در کلیه پایه‌های رویشی بیشترین تعداد و طول گیاهچه را تولید کرد، لذا بازکشت‌ها در محیط کشت MS تغییر یافته ادامه پیدا کرد. مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم کننده‌های رشد (جدول ۲) نشان داد که پایه‌های رویشی GF677 و تترا در محیط MS تغییر یافته با ترکیب اول (۰/۶ میلی گرم در لیتر BAP و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA)، بیشترین تعداد گیاهچه را تولید کردند. در پایه رویشی نماگارد اختلاف معنی داری در تعداد گیاهچه پرآوری شده از (NAA)، بین سه ترکیب به کار رفته، مشاهده نشد، لذا استفاده از غلظت کمتر تنظیم کننده‌های رشد برای افزونگری آن قابل توصیه است. پایه رویشی GF677 در محیط‌های MS2 و MS3، تولید کالوس کرده و شیشه‌ای شدن را به همراه داشت. در پژوهش کمالی و همکاران (Kamali et al., 2006) محیط مناسب برای پرآوری پایه GF677، محیط MS حاوی ۰/۷

<sup>21</sup> Woody Plant Medium

میلی گرم در لیتر BA و ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر NAA گزارش شد که به غلظت های مطلوب BA و NAA در تحقیق حاضر نزدیک می باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین صفات مورد بررسی تحت تاثیر پایه رویشی و تنظیم کننده های رشد  $\pm SD$

پایه رویشی	تنظیم کننده رشد	میانگین تعداد گیاهچه پرآوری شده
GF677	MS1	۲/۲۲۵ $\pm$ ۰/۰۹
GF677	MS2	۰/۷۷f $\pm$ ۰/۰۲
GF677	MS3	۰/۰۵f $\pm$ ۰/۰۳
نمگارد	MS1	۱/۴۵e $\pm$ ۰/۰۱
نمگارد	MS2	۱/۳۲e $\pm$ ۰/۰۵
نمگارد	MS3	۱/۲۲e $\pm$ ۰/۰۱
تترا	MS1	۵/۱۱a $\pm$ ۰/۰۶
تترا	MS2	۲/۷۷b $\pm$ ۰/۰۶
تترا	MS3	۱/۷۷d $\pm$ ۰/۰۷

اثر پایه رویشی بر میانگین تعداد ریشه نشان داد که پایه های تترا و GF677 به ترتیب با میانگین های ۳/۱۶ و ۲/۴۴ بیشترین تعداد ریشه را تولید کردند. پایه های رویشی تترا و نمگارد به ترتیب با میانگین های ۵/۶۶ و ۴/۶۳ بیشترین طول ریشه را داشتند. اثر محیط کشت بر میانگین تعداد ریشه نشان داد که محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر NAA با میانگین ۲/۸۵ بیشترین تعداد ریشه را تولید کرد. تنظیم کننده های رشد برای صفت میانگین طول ریشه اختلاف معنی داری را نشان ندادند.

#### منابع:

- رادنیا، ح. ۱۳۷۵. پایه های درختان میوه. ترجمه. صفحه ۲۴۸.
- 1- Kamali, K., Majidi, E. and Zarghami, R. (2006). Micropropagation of GF677 rootstocks (*Prunus amygdalus*×*P. persica*). Plant Genetic and Breeding, 56: 175-177.
  - 2- Modgil, M. Gupta, R. and Thakur, M. (2010). *In vitro* rooting and hardening in apple rootstock EMLA111- influence of some. Acta Horticulturae, 865:339-344.
  - 3- Pilar, A. and Marin, J. A. (2005). *In vitro* culture establishment and multiplication of the *Prunus* rootstock 'Adesoto 101' (*P. insititia* L.) as affected by the type of propagation of the donor plant and by the culture medium composition. Scientia Horticulturae, 106: 258-267
  - 4- Ruzic, D., Saric, M., Cerovic, R and Culafic, L., (2003). Contents of macroelements and growth of sweet cherry rootstock *in vitro*. Biology of Plants, 47: 463-465.
  - 5- Silva, A. L., Rogalski, M. and Moraes, L. K. (2003). In vitro establishment and multiplication of prunus rootstock. Revista Brasileira de Fruticultura, 25: 297-300.

### Study on micropropagation of some clonal rootstocks of stone fruit

#### Abstract

According to importance of clonal rootstocks and in order to extend of utilization of clonal rootstocks of stone fruits, in this study, propagation of them including of Tetra, Nemaguard and GF677 were evaluated with *in vitro* culture. Explants of apical and lateral buds of rootstocks were disinfected and were placed in modified MS, WPM and Knop media. Results were showed that Tetra, GF677 and Nemaguard rootstocks were produced the highest of plantlet number and Tetra, Nemaguard and GF677 rootstocks were produced the highest of

plantlet length respectively. Nemaguard rootstock didn't show any proliferation in Knop medium. Knop medium leading to necrosis and chlorosis in Tetra and Nemaguard rootstocks. Every three rootstocks were produced the highest of plantlet number and length in MS modified medium, thus combination of plant growth regulators were evaluated in modified MS medium. Evaluated rootstocks were produced the highest of plantlet number and length in MS1 medium (0.6mg/l BAP and 0.01mg/l NAA). Increasing concentration of plant growth regulators leading to vitrification and callus production in GF677 rootstock. The highest of root number was obtained in modified MS medium containing 1 mg/l NAA and Tetra rootstock produced the highest of root number and length. Finally rooty rootstocks were transferred to peat and perlite medium in acclimation room.

**Key words:** Clonal rootstock, Stone fruit, *in vitro* culture