سازگاری گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت گونه بومی و در معرض خطر قره‌قات (*Ribes khorasanicum* Saghafi & Assadi) در بسترهای مختلف

هادی درودی[1*]، مسلم اکبری‌نیا[2]، عباس صفرنژاد[3]، سیدمحسن حسینی[2] و محمد حاجیان شهری[3]

[1] ایرانشهر، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی بلوچستان، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع

[2] نور، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده منابع طبیعی وعلوم دریایی، گروه جنگلداری

[3] مشهد، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، بخش تحقیقات جنگل و مرتع

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۱۱/۱۰

چکیده

گونه قره‌قات خراسانی (*Ribes khorasanicum*) یکی از گونه‌های بومی خانواده تک‌جنسی Grossulariaceae می‌باشد که بدلیل چرای دام در گذشته و قوه‌نامیه پایین بذرهای آن، جمعیت آن به‌میزان زیادی کاهش یافته است. تکثیر آن در طبیعت تنها از طریق ریزوم انجام می‌شود، از آنجایی که تکثیر از طریق بذر و قلمه آن با موفقیت زیادی همراه نبوده است، تکثیر از طریق کشت بافت می‌تواند راه حل مناسبی برای احیاء رویشگاه‌های آن باشد. یکی از مشکلات کشت بافت سازگاری آن و تلفات زیاد گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در طی مرحله سازگاری است. از این‌رو پژوهش پیش‌رو برای یافتن بستری مناسب بمنظور سازگار کردن این گونه ارزشمند دارویی انجام شد. بدین منظور، تأثیر ترکیب‌های مختلف از بسترهای پیت‌ماس، کوکوپیت، پرلایت و خاک روی زنده‌مانی، رشد ارتفاعی و ویژگی‌های ریشه گیاهچه‌ها طی دوره سازگاری مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بسترهای مختلف تفاوت‌های معنی‌داری از نظر ارتفاع گیاهچه، درصد زنده‌مانی و تعداد برگ ایجاد کرده‌اند اما سطح تاج پوشش نهال‌ها از این نظر تفاوتی نداشته است. نتایج آزمون تجزیه‌واریانس ویژگی‌های ریشه نهال‌ها نشان داد که با تغییر بستر کاشت تغییر معنی‌داری در تعداد ریشه، طول ریشه و مجموع طول ریشه گیاهچه‌ها ایجاد شده است. درمجموع، با درنظرگرفتن ویژگی‌های مختلف گیاهچه‌ها از قبیل زنده‌مانی، شادابی، ارتفاع، تعداد برگ و طول ریشه گیاهچه‌ها می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مناسب‌ترین بستر برای ایجاد سازگاری گیاهچه‌های قره‌قات بستر پیت‌ماس است.

واژه‌های کلیدی: گیاهچه، ریزازدیادی، زنده‌مانی، پیت‌ماس، رشد

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۰۵۰۸۰۰۷۳ ، پست الکترونیکی: hadi_f79@yahoo.com

مقدمه

در چند سال اخیر، روش‌های ریزازدیادی بمیزان زیادی رواج یافته است و بعنوان یک ابزار مهم و سودمند برای تکثیر سریع چندین واریته تجاری و باغی و جنگلی مورد استفاده قرارگرفته است. اگرچه این تکنولوژی چندین کاربرد موفقیت‌آمیز داشته است، اما میزان زنده‌مانی کم و رشد کم آن هنگام انتقال به شرایط خارج از آزمایشگاه از مهمترین مشکلاتی است که استفاده آنها را در تولید تجاری گیاهان دشوار می‌سازد.

از جمله ویژگی‌های نامناسب ایجادشده در گیاهچه‌ها بعلت شرایط کنترل شده آزمایشگاه، رطوبت زیاد، شدت نور کم

و فقدان میکروارگانیزم‌ها می‌توان به موارد زیر اشاره کرد: برگ‌های ایجادشده از نظر واکس‌های کوتیکولی پوست فقیر یا فاقد آن هستند. برگ‌های گیاهچه‌ها نازک و دارای مزوفیل توسعه نیافته با میزان کلروفیل کم و تشکیلات کلروپلاستی ضعیف هستند. روزنه‌ها غیرعملکردی هستند. میزان فعالیت آنزیم فتوسنتزی کم، در نتیجه بازده فتوسنتزی گیاهچه‌ها کم می‌باشد. سیستم ریشه‌ای ناقص و توسعه ریشه‌های مویین ضعیف است. ارتباط آوندی بین ریشه و ساقه ناقص است، درنتیجه باعث کاهش جذب عناصر غذایی، رطوبت و کاهش مقاومت گیاه در برابر شوک ناشی از انتقال و درنتیجه کاهش استقرار گیاهچه‌ها می‌شود (۹ و ۱۱). از این‌رو روش‌های مختلف و یا بسترهای مختلف برای افزایش زنده‌مانی گیاهچه‌ها در طول دوره سازگاری مورد استفاده قرار می‌گیرد.

بسترهای کشت دارای وظایف مختلفی در طول رشد گیاه هستند، که شامل فراهم کردن هوا و آب، ایجاد شرایط مناسب برای رشد حداکثر ریشه و حمایت فیزیکی گیاه و کمک به استقرار بهینه آن می‌باشد (۱۲). بستر مورد استفاده باید دارای ذرات درشت به مقدار زیاد و ذرات ریز به اندازه کافی در ترکیب بستر باشند. توجه به انتخاب اندازه مناسب این ذرات و یا ترکیب اندازه ذرات برای یک بستر نرم و سبک که بخوبی هوادهی می‌شود، نیز ضروریست. استفاده از بسترهای مختلف آلی و غیرآلی به گیاهان اجازه می‌دهد که بهترین جذب مواد غذایی انجام شود و بدلیل نگهداری مناسب آب و اکسیژن در بستر رشد کافی داشته باشند (۲۳). بطور کلی بسترها شامل آلی (پیت‌ماس، بقایای چوب، الیاف نارگیل، تفاله نیشکر، خاکبرگ و پوست برنج) و معدنی (پرلیت، ورمی‌کولیت، پشم‌سنگ، فوم پلی‌استر، شن و غیره) می‌شوند.

در ریزازدیادی سازگاری یک مرحله حیاتی می‌باشد. درصد زیادی از تلفات گیاه طی این مرحله رخ می‌دهد. در این دوره محیط تدریجاً طی زمان تغییر می‌کند و با شرایط نزدیک به درون شیشه شروع و با شرایط نزدیک به گلخانه یا عرصه پایان می‌یابد (۱۵). مرحله سازگاری گیاه را قادر می‌سازد که در محیط با رطوبت نسبی کمتر، نور بیشتر و بسترهای آلوده به وضعیت رشد اتوتروفی برسد. شرایط این مرحله شامل افزایش نور، کاهش رطوبت، نوسانهای دمایی و آلودگی می‌شود.

انتخاب صحیح بستر و مرحله رشد مطلوب برای دستیابی به درصد بالای زنده‌مانی اهمیت دارد (۱۲). یک بستر، یک ماده جامد و نفوذپذیر طبیعی یا مصنوعی، بصورت ترکیبی یا خالص می‌باشد که رشد کافی و مناسب گیاه را در شرایط کنترل شده محیطی ممکن می‌سازد (۶). عملکرد بستر فراهم آوردن یک حمایت مکانیکی و بهبود جذب آب و هوا به‌وسیله ریشه می‌باشد (۲۲). انتخاب یک بستر با آلودگی کمتر، هوادهی زیاد، نفوذپذیری و اسیدیته مناسب لازمه تضمین مرحله ابتدایی استقرار و رشد اتوتروفی گیاه می‌باشد (۱۲).

مهمترین عملکردهای بستر کاشت: فراهم آوردن حمایت کافی از گیاه، رساندن هوا، آب و عناصر معدنی ضروری نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم (N-P-K-Ca-Mg) به ریشه‌ها برای تأمین تغذیه مناسب گیاهی و بهینه کردن رشد بوسیله کاهش استرس به گیاهان است (۱۶). بستر باید نفوذپذیری بیشتر از ۷۵٪ داشته باشد و ظرفیت نگهداری آب آن بیشتر از خاک عرصه باشد (۷). از بین ویژگی‌های شیمیایی ظرفیت تبادل کاتیونی(CEC)، pH، ظرفیت تثبیت فسفر و همچنین امکان فراهم‌نمودن محیط پایدار برای رشد میکروارگانیزم‌های سودمند نکات مهمی هستند. انتخاب بستر رشد مطلوب، یک نقش حیاتی در کاهش حجم تلفات گیاهی دارد (۱۶).

گونه قره‌قات (*Ribes khorasanicum*) که انحصاری ایران و خراسان است، برای نخستین بار توسط اسدی و ثقفی در سال ۱۹۹۵ در نواحی شمال‌شرق خراسان شناسایی و معرفی شد. قره‌قات گیاهی است درختچه‌ای و بدون خار

به‌فرم زیستی فانروفیت (فانروفیت خزان‌کننده با جوانه‌های فلس‌دار) جزء میکروفانروفیت‌ها (با ارتفاع ۲ تا ۸ متر) می‌باشد. تکثیر درطبیعت عمدتاً از طریق غیرجنسی و به کمک جوانه‌های موجود در ریزوم است. این گیاه در خاک‌های لومی خنثی تا کمی اسیدی حاوی مقدار زیادی مواد آلی کربن‌دار رشد می‌کند. نیاز گیاه به نیتروژن و پتاسیم خاک زیاد است، اما نیاز آن به فسفر اندک است. این گیاه سایه‌دوست است و در ارتفاعات بالاتر از ۲۴۰۰ متری و در شیب‌های شمالی دیده می‌شود. دمای زیاد و تابش شدید نور خورشید برای گیاه قابل تحمل نیست. سیستم ریشه در این گیاه سطحی بوده و آبیاری قطره‌ای یا باران برای آن مناسب است (۱). علاوه بر درصد بسیار کم جوانه‌زنی بذور این گونه، یکی از مهمترین علل تخریب جمعیت این گونه گیاهی دخالت‌های انسانی است که بصورت مستقیم و غیرمستقیم در این امر نقش دارد. براساس معیارهای تعیین شده از سوی WCMC (World Conservation Union) که هنوز در سطح جهانی بعنوان IUCN بیان می‌شود، می‌توان این گونه را جزء آرایه‌ها (تکسون‌های) آسیب‌پذیر (Vulnerable) VU طبقه‌بندی کرد (۱). بدلیل چرای دام در گذشته و قوه‌نامیه کم بذور آن زادآوری جنسی آن بمیزان زیادی کاهش یافته است و تکثیر آن تنها از طریق ریزوم انجام می‌شود. از این‌رو یکی از راه‌های حفظ و تکثیر و کمک به احیای رویشگاه‌های آن تکثیر غیرجنسی آن از طریق کشت بافت می‌باشد. اما یکی از مشکلات تکثیر این گونه از طریق کشت بافت سازگاری آن و میزان بالای تلفات گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در طی مرحله سازگاری می‌باشد. از این‌رو، این تحقیق برای یافتن بستری مناسب بمنظور سازگار کردن این گونه ارزشمند دارویی انجام شد. از جمله کارهای انجام شده در این ارتباط می‌توان به کلاپا و همکاران، ۲۰۰۹ اشاره کرد که به مطالعه سازگاری قره‌قات سیاه پرداختند، آنان دو نوع بستر جامد پرلایت و مخلوط خاک و پرلایت (۱:۱) و یک نوع بستر مایع را مورد بررسی قرار دادند. سازگاری در بستر مایع و پرلایت بیشتر از بستر خاک + پرلایت بود (۱۰). سازگاری خارج شیشه برخی گونه‌های باغی در کشت آبی مورد بررسی قرار گرفت. زنده‌مانی گیاهچه‌های قره‌قات ۱۰۰ درصد بود. گیاهچه‌های قره‌قات سازگار شده بعد از ۳-۴ هفته قابل انتقال به گلدان بودند (۱۳). در سال ۲۰۰۶ ، لازیک و روزیک به تکثیر گونه قره‌قات سیاه از طریق کشت بافت پرداختند، پس از ریشه‌دار کردن گیاهچه‌ها اقدام به کاشت آنها در بستر پیت در شرایط میست در داخل گلخانه کردند. میزان زنده‌مانی آنها کم و حدود ۴۰ درصد بود (۱۹). در این مطالعه تأثیر بسترهای مختلف روی فاکتورهای رویشی گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت *Ribes khorasanicum* شامل ارتفاع، تعداد برگ، شادابی، زنده‌مانی، تعداد و طول ریشه و قطرگیاهچه-ها بررسی شد.

مواد و روشها

بمنظور ریزازدیادی گونه قره‌قات در خرداد ماه ۱۳۹۲ اقدام به مراجعه به رویشگاه این گونه در ارتفاعات کوه‌های هزار مسجد در خراسان رضوی شد. سپس از طریق کشت بافت تکثیر آن در آزمایشگاه بیوتکنولوژی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران شعبه شمال شرق و شرق کشور در شهرستان مشهد انجام شد. بدین صورت که از جوانه‌های جانبی و انتهایی بعنوان ریزنمونه استفاده شد. برای جلوگیری از آلودگی ریزنمونه‌ها تیمارهای مختلف ضدعفونی بررسی شد. مناسب‌ترین تیمار ضدعفونی، بهترین محیط و ترکیب هورمونی برای باززایی، پرآوری و ریشه‌زایی تعیین شد (۴). پس از اینکه گیاهچه‌ها در شرایط درون شیشه‌ای ریشه‌دار شدند، اقدام به خارج کردن آنها از شیشه شد. بدین‌صورت که پس از خارج کردن گیاهچه‌ها از داخل شیشه محیط اطراف ریشه شسته شد (در صورت باقی‌ماندن محیط در اطراف ریشه بعلت رطوبت و مواد غذایی غنی آن سریعاً دچار آلودگی می‌شوند و میکروارگانیزمهایی مانند قارچ‌ها و باکتری‌ها در آن رشد

می‌کنند که رشد گیاه را مختل می‌کند). پس از شستشوی ریشه، گیاهچه‌ها به‌داخل گلدان‌های حاوی بستر مناسب که قبلاً استریل شده منتقل شدند. تیمار بسترهای مورد استفاده شامل موارد زیر می‌شدند (جدول ۱). هر تیمار شامل ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۵ گیاه بود. اندازه‌گیری‌ها دو ماه پس از اعمال تیمارها انجام شد که شامل ارتفاع، تعداد برگ، شادابی، زنده‌مانی، تعداد و طول ریشه و قطر گیاهچه‌ها می‌شد. گیاهان در طی اعمال تیمار در دمای ۲±۲۵ درجه سانتیگراد و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. هر ماه یکبار اقدام به تغذیه گیاهان با استفاده از محلول هوگلند شد. آبیاری‌ها هر هفته دو مرتبه انجام شد.

جدول ۱- ترکیب بسترهای مورد استفاده برای بررسی سازگاری گیاهچه‌های قره‌قات حاصل از کشت بافت

شماره بستر	ترکیب	شماره بستر	ترکیب
۱	کوکوپیت	۶	پرلیت + کوکوپیت
۲	پرلیت	۷	خاک + کوکوپیت + پرلیت
۳	پیت‌ماس	۸	خاک + پرلیت
۴	کوکوپیت + پیت‌ماس	۹	کوکوپیت + خاک
۵	کوکوپیت + پیت‌ماس + پرلیت	۱۰	خاک + پرلیت + کوکوپیت + پیت‌ماس

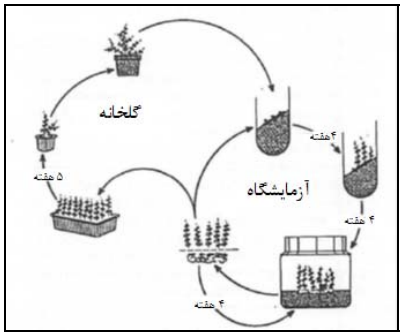
کوکوپیت یک ترکیب حاصل از فرایندسازی پوسته میوه نارگیل می‌باشد که از نظر فیزیکی ماده‌ای اسفنجی و شبیه پیت‌ماس است (۱۸). کوکوپیت از نسبت‌های مساوی لیگنین و سلولز تشکیل شده است و غنی از پتاسیم و عناصر کم مصرف به‌ویژه آهن، منگنز، روی و مس می‌باشد.

پرلایت: یک سنگ آتشفشانی می‌باشد که در ۸۰۰ درجه سانتیگراد تشکیل می‌شود، بنابراین هوادهی دائمی و نفوذپذیری را در هر ترکیبی بهبود می‌بخشد. ویژگی ذاتی آن در نفوذپذیری و سالم بودن هنگام استفاده در مرحله سازگاری اهمیت دارد (۱۲). این ماده دارای گنجایش تبادل کاتیونی زیادی نمی‌باشد (۸).

پیت‌ماس ذرات تجزیه شده مواد آلی است که در مناطق مرطوب و سرد ایجاد می‌شود (شکل ۲). بستری گیاهی که قادر است تا ۲۰ برابر وزن خود آب جذب کند. اسیدیته آن ۵-۶ می‌باشد، اشکال آن این است که پس از ۲ تا ۴ ماه خاصیت خود را از دست می‌دهد، بنابراین پس از آن باید منتقل شود (۱۲).

شکل ۲- گیاهچه‌های قره‌قات طی مراحل مختلف (به‌ترتیب از بالا سمت راست: ریشه‌دار شده در شرایط درون شیشه، کشت‌شده در بستر پرلایت، کاشته‌شده در بستر کوکوپیت، خارج‌شده از بستر، گیاهچه سازگار شده در بستر پیت‌ماس، گیاهچه‌های سازگارشده در بستر پیت‌ماس)

در طول دوره رشد گیاه میزان آبیاری، دما، رطوبت و کنترل حشرات برای همه تیمارها بطور مشابه انجام شد. برخی از شاخص‌های رشد شامل ارتفاع، تعداد برگ، شادابی، زنده‌مانی، تعداد و طول ریشه و قطرگیاهچه‌ها اندازه‌گیری گردید. خلاصه‌ای از روش مورد استفاده از کشت درون شیشه‌ای بطور شماتیک در شکل ۱ نمایش داده شده است.



شکل ۱- مراحل تکثیر و سازگاری گیاهچه‌های حاصل از کشت بافت در آزمایشگاه و داخل گلخانه

طرح آماری مورد استفاده طرح کاملاً تصادفی بود، آنالیز داده‌ها توسط نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ انجام شد و بدین صورت عمل شد که پس از تعیین همگنی و نرمالیتی داده‌ها، برای مقایسات کلی از آزمون تجزیه واریانس و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون توکی استفاده شد.

نتایج و بحث

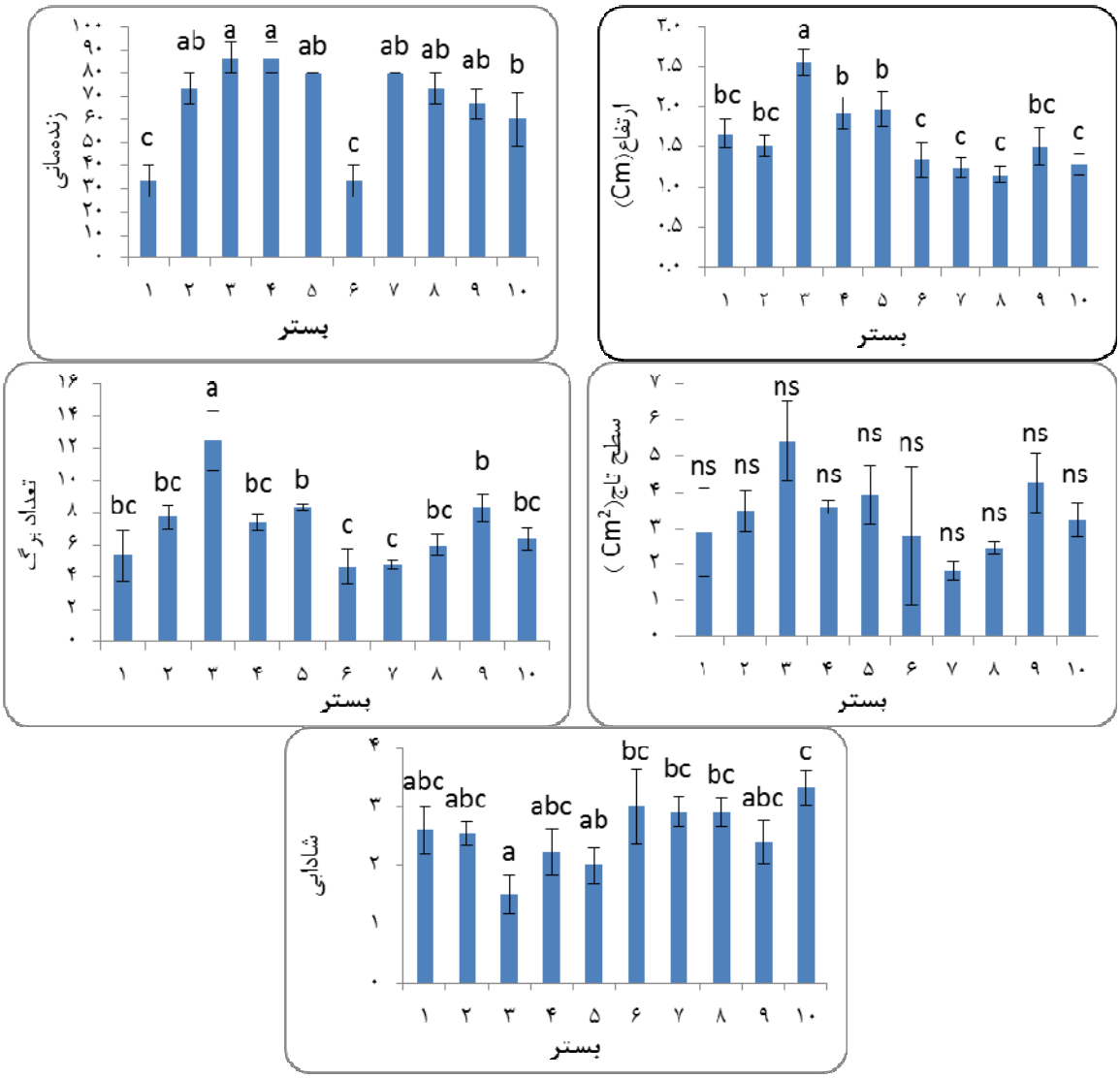
نتایج تجزیه و تحلیل ویژگی‌های مختلف نهال‌ها تحت تأثیر نوع بستر مورد استفاده برای ایجاد سازگاری نشان‌داد که بسترهای مختلف تفاوت‌های معنی‌داری از نظر ارتفاع گیاهچه، درصد زنده‌مانی و تعداد برگ ایجاد کرده‌اند اما سطح تاج پوشش نهال‌ها از این نظر تفاوتی نداشته است (به‌ترتیب p= ۰/۰۰۰ ، p= ۰/۰۰۰ ، p= ۰/۰۰۰ و p= ۰/۳۴۸) (جدول ۲).

جدول ۲- بررسی نتایج آزمون تجزیه واریانس ویژگی‌های نهال‌ها تحت تأثیر بسترهای مختلف

	درجه آزادی	میانگین مربعات	سطح معنی‌داری
ارتفاع نهال	۹	۰/۵۶۱	۰/۰۰۰**
درصد زنده‌مانی	۹	۱۱۶۸/۸۸۹	۰/۰۰۰**
تعداد برگ	۹	۰/۱۵۹	۰/۰۰۱**
سطح تاج	۹	۳/۰۵۸	۰/۳۴۸ ns

**: وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۹ درصد اطمینان ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۹۵ درصد اطمینان

مقایسه میانگین ارتفاع نهال‌ها تحت تأثیر بسترهای کاشت مختلف نشان داد که در تیمار بستر پیت‌ماس نهال‌ها دارای بیشترین رشد ارتفاعی (با میانگین ارتفاع ۲/۵۶ سانتیمتر) بودند و در سایر بسترها نهال‌ها رشد کمتری از خود نشان دادند (شکل ۳). رشد بهتر در بستر پیت‌ماس ناشی از رطوبت مناسب بستر و وضعیت بهتر بستر از نظر تغذیه‌ای می‌باشد. بستر پیت‌ماس یک بستر آلی است که با افزودن عناصر نیتروژن، پتاسیم و فسفر به بستر سعی شده که به بهبود وضعیت تغذیه‌ای آن کمک شود.



شکل ۳- مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف گیاهچه‌های قره‌قات تحت تأثیر بسترهای مختلف (اشتباه معیار نشان داده شده است)

بررسی میانگین درصد زنده‌مانی نهال‌ها با استفاده از آزمون توکی نشان داد که نهال‌های کشت شده در بستر پیت‌ماس و کوکوپیت + پیت‌ماس با ۸۶/۶۶ درصد زنده‌مانی، بهتر سازگار شده‌اند و زنده‌مانی بیشتری نسبت به سایر بسترها از خود نشان دادند (شکل ۳). بنابراین بنظر می‌رسد بدلیل خاصیت نگهدارندگی آبی است که بستر پیت‌ماس دارا می‌باشد (قادر است تا ۲۰ برابر وزن خود آب جذب کند). زیرا یکی از مهمترین استرس‌هایی که گیاهچه‌های خارج شده از شرایط درون شیشه‌ای متحمل می‌شوند استرس آبی می‌باشد که بعلت توسعه ناقص سیستم ریشه‌ای، برگ،

میزان جذب آب کم و هدر رفت زیاد آب می‌باشد. در همین رابطه عنوان شده که برگ‌های ایجاد شده در شرایط آزمایشگاهی از نظر واکس‌های کوتیکولی پوست فقیر یا فاقد آن هستند که این منجربه افزایش میزان تعرق می‌شود که این خود باعث خشکیدگی برگ و از بین رفتن گیاه در شرایط خارج از آزمایشگاه می‌شود. همچنین سیستم ریشه‌ای ناقص و توسعه ضعیف ریشه‌های مویین و ارتباط آوندی ناقص بین ریشه و ساقه در نتیجه باعث کاهش جذب عناصر غذایی و رطوبت و کاهش مقاومت گیاه در برابر شوک ناشی از انتقال و در نتیجه کاهش استقرار گیاهچه‌ها می‌شود (۹، ۱۵). عملکرد بستر فراهم آوردن یک حمایت مکانیکی و بهبود جذب آب و هوا بوسیله ریشه می‌باشد (۲۲). در شرایط استاندارد کشت بافت رطوبت نسبی معمولاً بیشتر از ۹۵ درصد است و برگ‌های توسعه یافته در شرایط درون شیشه لایه مومی خود را همانند گیاهان شرایط خارج شیشه توسعه نمی‌دهند (۱۴). بعنوان مثال گیاه سازگار نشده خرما تنها ۱۵ درصد ترکیب مومی نهال‌های رشد کرده در شرایط گلخانه را داراست (۲۵). در مورد گیاهچه‌های گونه دارویی *Eurycoma longifolia* نیز بستر جیفی که رطوبت را بهتر حفظ می‌کند نتایج بهتری در مورد سازگاری گیاهچه‌ها از خود نشان داد (۲۴). در مورد قلمه‌های سماق نیز قلمه‌ها در بستر پیت‌ماس که از ظرفیت نگهداری رطوبت بیشتری برخوردارند، درصد جوانه‌زنی بیشتری داشتند (۲).

مقایسه میانگین تعداد برگ گیاهچه‌ها در بسترهای کشت مختلف توسط آزمون توکی نشان‌داد که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین بسترهای مختلف وجود دارد و بستر پیت‌ماس با متوسط ۱۲/۵ عدد برگ دارای بیشترین تعداد برگ می‌باشد (شکل ۳). نتایج تجزیه واریانس سطح تاج نهال‌ها نشان داد که تفاوت معنی‌داری از این نظر بین بسترهای مختلف ایجاد نشده است اما بستر پیت‌ماس بیشترین سطح تاج را خود اختصاص داده است (شکل ۳).

نتایج مقایسه میانگین طبقه‌های شادابی نشان‌داد که بستر پیت‌ماس از بیشترین شادابی برخوردار است و کمترین شادابی نیز مربوط به بستر خاک+ پرلایت+ پیت ماس+ کوکوپیت می‌باشد (شکل ۳). این ویژگی به وضعیت بهتر بستر از لحاظ وضعیت رطوبتی و عناصر تغذیه‌ای نسبت به سایر بسترهای مورد استفاده مرتبط می‌باشد. در مورد گونه پالونیا، طاها و همکاران (۲۰۰۸) نیز بیشترین تعداد برگ را در بستر پیت‌ماس در مقایسه با پیت‌ماس: ماسه (۱:۱) و پیت ماس: سیلت (۱:۱) بدست آوردند (۲۱).

نتایج آزمون تجزیه‌واریانس ویژگی‌های ریشه نهال‌ها نشان داد که با تغییر بستر کاشت تغییر معنی‌داری در تعداد ریشه، طول ریشه و مجموع طول ریشه گیاهچه‌ها ایجاد شده است (به‌ترتیب $p=۰/۰۰۱$ ، $p=۰/۰۱$ و $p=۰/۰۵$) (جدول ۳).

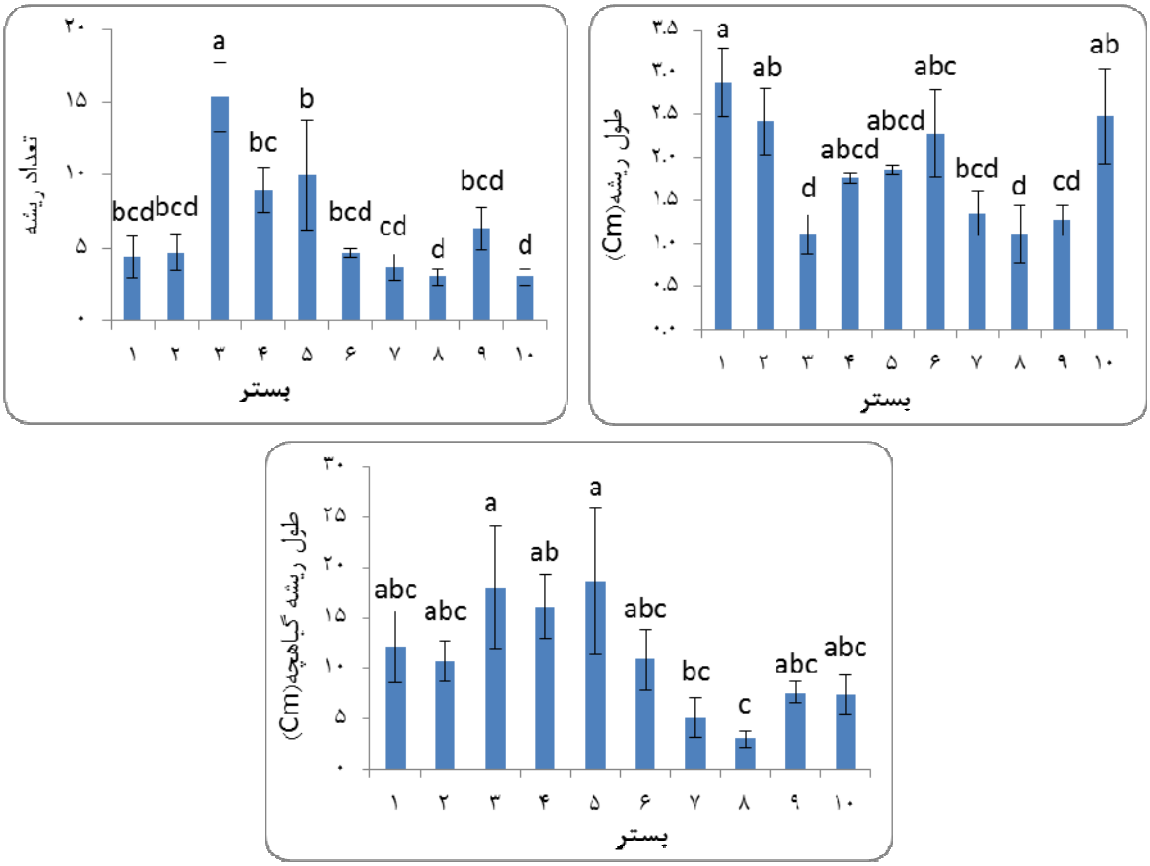
جدول ۳- بررسی نتایج آزمون تجزیه واریانس ویژگی‌های ریشه تحت تأثیر بسترهای مختلف

فاکتور	درجه آزادی	میانگین مربعات	سطح معنی‌داری
تعداد ریشه	۹	۴۶/۸	۰/۰۰۱**
میانگین طول ریشه	۹	۱/۲۲۲	۰/۰۱*
طول ریشه گیاهچه	۹	۸۵/۵۱۴	۰/۰۵*

*: بیانگر وجود اختلاف در سطح ۵ درصد **: بیانگر وجود اختلاف در سطح ۱ درصد

مقایسه میانگین تعداد ریشه نهال‌ها تحت تأثیر بسترهای مختلف نشان داد که بستر پیت‌ماس دارای بیشترین تعداد ریشه تولیدی (میانگین ۱۵/۳۳ ریشه) و سایر بسترها از تعداد ریشه کمتری برخوردار بودند (شکل ۴). بنابراین

بنظر می‌رسد که بدلیل مواد غذایی بیشتر بستر پیت‌ماس نسبت به سایر بسترها ریشه بیشتری ایجاد شده است، در همین ارتباط اسچوامباچ و همکارانش در سال ۲۰۰۵ درمورد تأثیر غلظت‌های مختلف مواد معدنی بر ریشه‌زایی گیاه *Eucalyptus globulus* بررسی‌هایی را انجام دادند. نتایج نشان داد که تعداد ریشه در بستر حاوی کلسیم، نیتروژن (۱۸ mM) و روی (۳۰ µM) بالاتر بود؛ در حالی‌که در محیط حاوی فسفر، آهن (۳۰ µM) و منگنز (۰/۱ µM) و ازت (۱۸ mM)، طول ریشه تحت تأثیر قرار گرفته است (۲۰). از مهمترین عملکردهای بستر کاشت رساندن هوا، آب و عناصر معدنی ضروری نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم و منیزیم (N-P-K-Ca-Mg) به ریشه‌ها برای تأمین تغذیه مناسب گیاهی می‌باشد (۱۶) که در بستر پیت‌ماس به آن افزوده شده است.



شکل ۴- مقایسه میانگین ویژگی‌های مختلف ریشه تحت تأثیر بسترهای مختلف

بررسی میانگین طول ریشه نهال‌ها توسط آزمون توکی نشان داد که بین بسترهای مختلف تفاوت معنی‌داری از نظر طول ریشه وجود دارد، بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار بستر کوکوپیت می‌باشد (شکل ۴). نتایج نشان داد که بیشترین طول ریشه مربوط به بستر کوکوپیت می‌باشد که اولاً بدلیل نفوذپذیری این بستر و سهولت رشد داخل این بستر و همچنین ظرفیت نگهداری کمتر آب این بستر نسبت به بسترهای حاوی پرلایت و پیت‌ماس می‌باشد. در بستر کوکوپیت آب به ملایمی از بستر خارج می‌شود و این شیب ملایم کاهش آب گیاه را درپی دارد که به‌سمت رطوبت بیشتر گسترش دهد. در همین ارتباط عنوان شده که کمبود ملایم آب باعث توسعه ریشه به بخش‌های عمیق‌تر و مرطوب‌تر خاک می‌شود (۵). درودی و همکاران در سال ۱۳۹۳ در مورد نهال‌های ارس ذکر می‌کنند که در

بستر با رطوبت و عناصر غذایی کمتر نهال‌ها ریشه‌های خود را بیشتر توسعه می‌دهند تا به رطوبت و عناصر غذایی دسترسی پیدا کنند (۳).

مقایسه میانگین طول ریشه گیاهچه‌ها توسط آزمون توکی نشان داد که مناسب‌ترین تیمار بستر پیت ماس+ کوکوپیت + پرلایت و بستر پیت‌ماس بود (شکل ۴). این نتیجه بدلیل توانایی ترکیب در فراهم آوردن فضا، رطوبت و عناصر غذایی کافی برای گیاهچه‌ها می‌باشد که به رشد مناسب منجر شد. افزودن پرلایت به پیت‌ماس میزان نگهداری هوا (اکسیژن) در پیت‌ماس را افزایش می‌دهد، همانطور که پیت‌ماس آب را نگه می‌دارد. این باعث بهبود شرایط رشد گیاهان می‌شود (۱۷). در بستر پرلایت: خاک نیز بدلیل کاهش نفوذپذیری بستر و کاهش توانایی ریشه‌ها در نفوذ به داخل بستر، ریشه‌ها از توانایی کمتری در نفوذ به درون خاک برخوردارند.

گیاهچه‌های تولید شده از طریق ریزازدیادی حساسیت زیادی به تغییر شرایط درون شیشه‌ای به خارج شیشه از خود نشان می‌دهند و تلفات زیادی طی این مرحله متوجه تولید کنندگان می‌شود، از این‌رو انتخاب یک بستر مناسب با آلودگی کمتر، هوادهی بالا، توانایی نفوذپذیری و اسیدیته مناسب لازمه تضمین مرحله ابتدایی استقرار و رشد اتوتروفی گیاه می‌باشد. با درنظرگرفتن ویژگی‌های مختلف گیاهچه‌ها از قبیل زنده‌مانی، شادابی، ارتفاع، تعداد برگ و طول ریشه گیاهچه‌ها می‌توان نتیجه‌گیری کرد که مناسب‌ترین بستر برای ایجاد سازگاری گیاهچه‌های قرەقات بستر پیت‌ماس می‌باشد.

منابع

۱- ادیبی، ف. و اجتهادی، ح. (۱۳۸۷). بررسی گیاه *Ribes khorasanicum* گونه اندمیک شمال خراسان از نظر اکولوژی جمعیت. زیست شناسی ایران، ۲۱(۵): ۷۴۸-۷۶۰.

۲- درودی، ه.، اکبری‌نیا، م.، جلالی، س، غ. و خسروجردی، ا. (۱۳۸۷). تاثیر قطر قلمه و بستر کاشت بر ریشه‌دهی و زنده‌مانی قلمه سماق (*Rhus coriaria* L.). زیست شناسی ایران، ۲۱(۲): ۲۷۱- ۲۷۷.

۳- درودی، ه.، اکبری‌نیا، م.، خسروجردی، ا. و قاضی، م. (۱۳۹۳). اثر بستر کاشت بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و ریخت شناسی نهال‌های ارس (*Juniperus excelsa* M.Bieb.). پژوهش‌های گیاهی(زیست شناسی ایران)، ۲۷(۴): ۶۱۳- ۶۲۱.

۴- درودی، ه.، اکبری‌نیا، م.، صفرنژاد، ع.، حسینی، س، م. و حاجیان‌شهری، م. (۱۳۹۴). ریزازدیادی گونه قرەقات (*Ribes khorasanicum*) از طریق کشت بافت. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۳(۱): ۶۵-۷۶.

۵- کافی، م.، برزویی، ا.، صالحی، م.، کمندی، ع.، معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۷). فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. جهاد دانشگاهی مشهد. ۵۰۴ صفحه.

6- Abad, M. (1989). The substrates in ornamental horticulture. Agricultural Plant Journal, 3: 146-152.

7- Beardsell, D.V., Nichols, D.G., and Jones, D. L. (1979). Physical properties of nursery potting mixtures. Scientia Horticulturae, 11: 1-8.

8- Benton Jones, J. (2006). Hydroponics a Practical Guide for the Soilless Grower. Translated by Rownaghi, A.M., and Maftoun, M., Shiraz university press, 273 p.

9- Chandra, S., Bandopadhyay, R., Kumar, R., and Chandra, R. (2010). Acclimatization of tissue cultured plantlets: from laboratory to land. Biotechnol Lett, 32:1199–1205.

10- Clapa, D., Fira, A., and Plopa, C. (2009). *Ex-Vitro* acclimation of Black Currant. Bulletin UASVM Horticulture, 66(1): 645- 645.

11- Darwesh, R, S, S. (2015). Morphology, physiology and anatomy *in vitro* affected acclimatization *ex vitro* date palm plantlets: A Review. International Journal of Chemical, Environmental & Biological Sciences, 3(2): 183- 190.

12- Diaz, L. P., Namur, J. J., Bollati, S. A., and Arce, O. E. A. (2010). Acclimatization of Phalaenopsis and Cattleya obtained by micropropagation. Colomb. Biotecnol, XII (2): 27-40.

13- Fira, A., and Clapa, D. (2009). *Ex-Vitro* acclimation of some horticultural species in hydroculture. Bulletin UASVM Horticulture, 66(1): 44-50.

14- Gilly, C., Rohr, R., and Chamel, A. (1997). Ultrastructure and radiolabelling of leaf cuticles from ivy (*Hedera helix* L.) plants *in*

vitro and during *ex vitro* acclimatization. Ann. Bot, 80:139-145.

15- Krtar, E,S., Balkaya, A., and Okumus, N.O. (2010). Effects of polymers and growth mediums on in vitro plantlets of Winter Squash (*Cucurbita maxima* Duch. ex Lam.) and Pumpkin (*Cucurbita moschata* Duch. ex Poir.) in acclimatization. Annals of Biological Research, 1 (2): 148-154 .

16- Lemaire, F. (1998). Use of organic materials as substrate in soilless cultures .Horticultural review, 336, 10-17.

17- Miller, R.W., and Donahue, R.L. (1990). Soils: An introduction to soils and plant growth: Prentice Hall.

18- Noguera, P., Abad, M., Noguera, V., Puchades R., and Maquieira. E. (2000). Coconut coir waste, a new and ecologically-friendly peat substitute. Acta Hort, 517: 279-286.

19- Ruzic, D., and Lazic, T. (2006). Micropropagation as means of rapid multiplication of newly developed Blackberry and Black Currant cultivars. Agriculturae Conspectus Scientificus, 71(4):149 -153 .

20- Schwambach, J., Fadanelli, C., and Fett-Neto, AG. (2005). Mineral nutrition and adventitious rooting in microcuttings of *Eucalyptus globulus.* Tree Physiol, 25(4):487-94.

21- Taha, L, S., Ibrahim, M, M, S., and Farhat, M, M. (2008). A Micropropagation protocol of *Paulownia kowakamii* through *in vitro* culture technique. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 2(3): 594-600.

22- Tortosa, J. (1990). Peat , physical and chemical characterization , evaluation cultivators container. Vergel Agricultural Review, 106: 777-783.

23- Verdonck O., De Vleeschauwer D., and De Boodt, M. (1982). The influence of the substrate to plant growth. Acta. Hortic, 126: 251-258.

24- Yahya, M, F., Hassan, N, H., Abdullah, N., Abd Rahman, S, S., Ismail, H., Abdullah, M, Z., Ariff, F, F, M., Nagh, M, L., Koter, R., Khalid, R., Abdullah, R., Zakaria, N. and Zakaria, N. (2015). Acclimatization of *Eurycoma longifolia* (Tongkat Ali) plantlets to *ex vitro* conditions. Journal Trop. Resour. Sustain. Sci. 3: 129- 131.

25- Zaid, A., and Hughes, H. (1995). In vitro acclimatization of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) plantlets: A quantitative comparison of epicuticular leaf wax as a function of polyethylene glycol treatment. Plant Cell Rept, 15:111-114.

Acclimatization of tissue cultured plantlets *Ribes khorasanicum* as an endemic endanger species in different substrates

Darroudi H.[1], Akbari nia M.[2], Safar nejad A.[3], Hosseini S.M.[2] and Hajian shahri M.[3]

[1] Forest and Rangelands Research DepT., Baluchestan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Iranshahr, I.R. of Iran

[2] Forestry Dept., Faculty of Natural Resources, Tarbiat Modares University, Nour, I.R. of Iran

[3] Khorasan Razavi Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Mashhad, I.R. of Iran

Abstract

Khorasanicum currant (*Ribes khorasanicum*) is one of the endemic species of monogenus Grossulariaceae family which its natural regeneration has been encountered with severe reduction due to livestock grazing, low seeds regeneration potential. It is mainly regenerated by vegetative method via rhizome. Since, the successfulness of regeneration using seed culture and cutting method was not acceptable. So, one of the recommended possible method for conservation of endangered species is multiplying and preservation them using in vitro tissue cultures techniques. But, one of the most probable problems of micropropagated plantlets is the acclimatization to in vivo conditions and high mortality of tissue cultured plantlet during this process. Thus, this research was conducted to find out the most suitable acclimatization medium for this valuable medicinal endemic species. For this purpose the effect of different substrate compounds including peat moss, cocopeat, perlit and soil was evaluated on survival, height and root characteristics during acclimatization process. Results showed that, significant differences were observed in plantlets height, survival percentage, vigourity and leaf numbers between different substrates. But different substrates, has no significant effects on plantlets crown area. Results of analysis of variance on rooting characteristics showed that, significant differences were observed in root numbers, root length and plantlet root length. Totally, according to plantlets characteristics such as: survival percentage, vigourity, plantlet height, leaf numbers and plantlets root length, can be concluded that the best substrate for acclimatization of this species was peat moss substrates.

Key words: plantlet, micropropagation, survival, peat moss, growth