مجله علوم و فنون باغبانی ایران جلد ۲۰ شماره ۴ صفحه‌های ۳۶۹ تا ۳۷۶ (۱۳۹۸)
مقاله پژوهشی

بهینه‌سازی کشت درون‌شیشه‌ای پسته بادامی ریز زرند با استفاده از جوانه‌های جانبی[۱]

Optimizing *in vitro* Culture of *Pistacia vera* 'Badami-Riz-Zarand' Using Axillary Buds

زهرا بهرام‌نژاد، علی اکبر محمدی میریک*، حسین دشتی، حمیدرضا کریمی و علی تاج آبادی‌پور[۲]

چکیده

پسته بادامی ریز زرند به‌دلیل حساسیت کم به بیماری گموز، تحمل شوری و سازگاری با پیوندک رقم‌های تجاری به‌عنوان پایه در باغ‌های پسته ایران استفاده می‌شود. در این پژوهش اثر محیط کشت (MS و DKW)، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر ریزافزایی این پایه بررسی شد. بیشترین رشد ریزنمونه‌ها در محیط کشت نیم‌غلظت DKW به‌دست آمد. افزودن ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان و زغال فعال تاثیر معنی‌داری بر مقدار استقرار جوانه‌ها نداشت. بیشترین شمار نوساقه (۵ تا ۶ عدد در هر ریزنمونه) در محیط‌کشت DKW حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین (BA) یا حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین و نیم میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید (GA) و هم‌چنین در محیط کشت نیم‌غلظت DKW حاوی نیم میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین یا ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل‌آدنین و نیم میلی‌گرم در لیتر جیبرلیک‌اسید به‌دست آمد. رشد طولی نوساقه‌ها در محیط کشت MS بیشتر بود (۳/۸۴ تا ۵ سانتی‌متر). در مرحله ریشه‌زایی، محیط کشت نیم‌غلظت MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر ایندول-۳-بوتیریک‌اسید (IBA) و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالن استیک‌اسید (NAA) با بیشترین طول ریشه (۴/۴۸ سانتی‌متر)، شمار ریشه در هر ریزنمونه (۴/۵) و بالاترین مقدار ریشه‌زایی (۸۶/۳۶ درصد) پس از ۴ هفته از زمان کشت، بهترین تیمار بود.

واژه‌های کلیدی: پسته، ریزافزایی، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، پرآوری، استقرار.

مقدمه

پسته گیاهی دوپایه و خزاندار از تیره پسته‌سانان (Anacardiaceae) و جنس *Pistacia* می‌باشد که به‌عنوان یک محصول مهم باغی جایگاه خاصی را در بین تولیدهای کشاورزی داراست و بخش عمده‌ای از صادرات غیر نفتی ایران را تشکیل می‌دهد (۵). پسته بادامی ریز زرند یکی از پایه‌های مورد استفاده در باغ‌های پسته ایران می‌باشد. بر اساس گزارش‌های موجود، بیشتر رقم‌های پسته موجود، به قارچ فایتوفتورا (*Phythophotra citrophtora*) حساس می‌باشند، اما رقم بادامی ریز زرند نسبت به دیگر رقم‌ها حساسیت کمتری به این بیماری نشان می‌دهد و هم‌چنین تحمل به شوری در این پایه نسبت به پایه‌های سرخس و بنه بیشتر می‌باشد (۶). مقایسه اثر پایه‌های مختلف پسته بادامی، سرخس، آتلانتیکا و بنه برای سه رقم کله قوچی، اوحدی و احمدآقایی در یک آزمایش شش ساله نشان داد که پسته بادامی ریز زرند دارای بیشترین مقدار رشد اولیه مناسب، سازگاری و گیرایی خوب با پیوندک رقم‌های مختلف و اندازه سایه‌سار مناسب بعد از انجام پیوند است (۸). افزون بر این، استفاده از پایه

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۲/۲۴ تاریخ پذیرش: ۹۸/۴/۲۹

۲- به‌ترتیب دانش‌آموخته کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، استادیار و استاد گروه ژنتیک و تولید گیاهی، استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان و عضو هیات علمی پژوهشکده پسته موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، رفسنجان، ایران.

* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (aa.mohammadi@vru.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

بادامی ریز زرند در برخی رقم‌های تجاری موجب افزایش مقدار محصول تر و خشک، درصد خندانی و کاهش درصد پوکی در مقایسه با دیگر پایه‌ها شده است (۱).

دانهال‌های مورد استفاده برای پایه به‌دلیل ماهیت دو پایه و دگرگشن بودن پسته، از نظر ساختار ژنتیکی و در نتیجه ویژگی‌های مختلف، یکسان نیستند، بنابراین اثرهای آن‌ها روی پیوندک‌ها متفاوت است. امروزه یکی از نکته‌های بسیار مهم در ایجاد باغ‌های جدید استفاده از پایه‌های یکنواخت حاصل از افزایش رویشی است. این پایه‌ها به‌دلایل متعدد از جمله یکنواختی اندازه درخت، مدیریت کارا در برنامه‌های داشت و برداشت باغ، مقاومت به بعضی از آفت‌ها و بیماری‌ها، تولید محصول یکنواخت و عملکرد بالا در واحد سطح، هر روزه اهمیت بیشتری پیدا می‌کنند. این طیف وسیع کارآیی پایه‌های رویشی سرانجام منجر به کاهش هزینه‌های تولید و ایجاد درآمد بالاتر برای باغدار می‌شود (۷). از طرفی افزایش رویشی با استفاده از ریشه‌دار کردن قلمه به‌منظور تولید پایه‌های یکنواخت کاری مشکل است (۲۵). بنابراین پژوهشگران به دنبال روش‌های بهتر و کاراتر برای افزایش غیرجنسی مانند ریزافزایی هستند که امروزه در افزایش گیاهان اهمیت زیادی یافته است. روش کشت بافت برای افزایش غیرجنسی نژادگان‌های مهم تجاری و گونه‌های گیاهی که افزایش آن‌ها سخت و مشکل است، مطلوب می‌باشد (۱۵). در مقایسه روش‌های مرسوم افزایش، ریزافزایی سودمندی‌های فراوانی برای افزایش غیرجنسی گیاهان دارد (۱۵) ولی این روش نسبت به روش‌های سنتی افزایش غیرجنسی گیاهان، یک فن افزایش پرهزینه و غیرقابل پیش‌بینی می‌باشد (۱۶). ریزافزایی توسط بافت‌های مختلف گیاه امکان‌پذیر است، اما از راه کشت جوانه موفق‌ترین و آسان‌ترین روش ممکن می‌باشد، زیرا جوانه بالقوه توانایی افزایش و تولید اندام‌های جدید را داشته و به همین دلیل از ثبات ژنتیکی کافی نیز برخوردار است (۳).

تاکنون گونه‌های مختلف پسته به‌منظور افزایش و به‌نژادی از طریق کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفته‌اند (۸، ۹، ۱۰). عوامل متعددی همچون منبع تهیه ریزنمونه، غلظت ساکارز، مقدار pH، نوع محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد، کشت درون شیشه‌ای را زیر تاثیر قرار می‌دهند (۴). در پژوهشی Li و همکاران (۱۹) برای ریزافزایی *P. chinensis* Bung محیط کشت مناسب برای شاخه‌زایی را DKW ۱/۲ و ترکیب ماده‌های غذایی مناسب برای ریشه‌زایی را محیطWPM ۱/۲ اعلام کردند. در پژوهشی دیگر در *P. vera* L. بیشترین شمار و طول نوساقه در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آدنین(BA)[۲] به‌دست آمد (۲۵). نتیجه‌های Can و همکاران (۱۱) در *P. mutica* نشان داد که محیط کشت MS توسعه بهتری از شاخه‌ها و ریشه‌ها را داراست و هم‌چنین جوانه‌های خیلی کوچک برای ریزافزایی مناسب نیستند. بر اساس نتیجه‌های پژوهشی در *P. lentiscus*، بذرهای بالغ کشت شده در محیط MS حاوی BA، ۶۶ درصد تنژیدند و بیشترین شمار ساقه در محیط MS و بیشترین طول ساقه و جوانه در محیط کشتDKW [۳] به‌دست آمد (۲۶).

با وجود مطالعه‌های متعددی که برای بهینه‌سازی شرایط افزایش درخت پسته در محیط کشت درون شیشه‌ای صورت گرفته، نرخ افزایش در این شرایط چندان بالا نیست. افزون بر این، در هر گونه گیاهی واکنش رقم‌ها و نژادگان‌ها به شرایط و عوامل مؤثر به ریزافزایی متفاوت است. بنابراین، با توجه به اهمیت رقم بادامی ریز زرند به‌عنوان پایه به‌منظور بهینه‌سازی ترکیب تنظیم کننده‌های رشد گیاهی و نوع محیط کشت در مراحل مختلف ریزافزایی شامل استقرار، پرآوری و ریشه‌دهی ریزنمونه‌ها در این رقم برای دستیابی به روش مؤثر و کارا در ریزافزایی آن آزمایشی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش‌ها

ریزنمونه‌های تک‌گره در اوایل مرداد ماه از شاخه‌های نیمه چوبی دانهال‌های حاصل از کشت بذر پسته بادامی ریز زرند در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه ولی‌عصر رفسنجان به اندازه یک سانتی‌متر تهیه شدند. برای گندزدایی، ابتدا ریزنمونه‌ها به‌مدت یک ساعت زیر آب روان قرار داده شدند و سپس با مایع شوینده ریکا به‌مدت ۳۰ دقیقه شستشوی سطحی شدند و پس از آن در محلول هیپوکلریت سدیم ۱ درصد به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفتند. پس از یک بار آبکشی با آب مقطر استریل، ریزنمونه‌ها با الکل‌اتیلیک ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه تیمار شدند و در پایان، ریزنمونه‌ها در ۳ مرحله و هر مرحله به مدت ۵ دقیقه با آب مقطر سترون و در اتاقک سترون آبشویی شدند.

۱- Murashige and Skoog ۲- Benzyl adenine(BA) ۳- Driver-Kuniyuki.Walnut

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

در مرحله استقرار ریزنمونه‌ها، محیط کشت‌های پایه MS، DKW و DKW ۱/۲ با ۰/۶درصد آگار مورد استفاده قرار گرفتند. در محیط کشت MS از ترکیب‌های زغال فعال (صفر و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و هم‌چنین تنظیم‌کننده رشد جیبرلیک‌اسید(GA_3) (صفر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) به‌صورت فاکتوریل استفاده شد. در محیط‌های کشت DKW و DKW ۱/۲ اثر آنتی‌اکسیدان‌های پلی وینیل پیرولیدون[۲](PVP) و سیتریک‌اسید + اسکوربیک‌اسید (برای مهار تراوش ترکیب‌های فنولی) با ترکیب‌های تیماری مختلف بررسی شد. هم‌چنین برای کنترل ترشح فنول، ریزنمونه‌های کشت شده به مدت ۷ روز در شرایط تاریکی قرار گرفتند. شمار روز تا شروع رشد جوانه‌ها شمارش شد و بعد از چهار هفته از کشت، درصد جوانه‌های رشد یافته، طول نوساقه و شمار برگ در نوساقه ثبت شد.

در مرحله پرآوری اثر نوع محیط کشت (DKW، ۱/۲DKW و MS)، غلظت BA (۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و غلظت GA_3 در دو سطح صفر و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح به‌طورکامل تصادفی با سه تکرار و دو ریزنمونه در هر تکرار بررسی شد. محیط‌های کشت مورد استفاده با ۰/۷درصد آگار تهیه شد و نوساقه‌های تولید شده در مرحله استقرار با طول ۲ سانتی‌متر جدا و به محیط‌های آزمایش در شرایط سترون انتقال یافتند. پس از مدت چهار هفته از کشت، ویژگی‌های شمار نوساقه در هر ریز نمونه، طول نوساقه‌ها و شمار برگ در هر نوساقه ثبت شد.

در مرحله ریشه‌دهی اثر سه عامل شامل محیط کشت در دو سطح (MS ۱/۲ و MS ۱/۳)، آلفا نفتالن استیک اسید[۳](NAA) در دو سطح (۰/۰۲ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر) و ایندول ۳- بوتریک اسید[۴](IBA) در دو سطح (۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) در قالب فاکتوریل بر پایه طرح به‌طورکامل تصادفی در پنج تکرار و در هر تکرار سه ریزنمونه بر مقدار ریشه‌زایی گیاهچه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. درصد ریشه‌زایی و شمار و طول ریشه‌ها در هر ریزنمونه نیز همانند آزمایش‌های قبل و در پایان هفته چهارم یادداشت برداری شد.

تمام آزمایش‌ها درون شیشه‌های حاوی۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بود. پیش از اتوکلاو (به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سلسیوس)، pH برای همه محیط‌ها به مقدار ۵/۸ تنظیم شد. ریزنمونه‌ها پس از کشت به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی در دمای ۱±۲۵ درجه سلسیوس منتقل شدند. واکاوی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS (version 9.1) و مقایسه میانگین تیمارها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام شد.

نتایج و بحث

مرحله استقرار ریزنمونه‌ها

بر اساس نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها بین محیط کشت‌های مختلف از نظر مقدار استقرار ریزنمونه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود داشت به‌طوری که بیشترین درصد جوانه‌های رشد یافته مربوط به محیط ۱/۲DKW (۷۵ درصد) و کمترین آن در محیط MS (۱۲/۵درصد) بود و در محیط کشت DKW ۵۰ درصد جوانه‌ها قادر به رشد بودند (جدول ۱). در محیط کشت MS بدون زغال فعال و هم‌چنین محیط دارای زغال فعال (۱ گرم در لیتر) افزودن GA_3 (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش درصد جوانه‌های رشد یافته گردید و هم‌چنین باعث افزایش طول ساقه و شمار برگ در هر ریزنمونه شد به‌طوری که به ترتیب ۲۷/۵۸ و ۳۵/۹ درصد ریزنمونه‌ها در این تیمارها استقرار یافتند ولی در تیمارهای بدون GA_3 میانگین این ویژگی ۱۰ و ۱۲/۵ درصد بود (جدول ۱) که به‌احتمال ناشی از اثر GA_3 از طریق فعال و بیدار کردن جوانه‌ها می‌باشد. امام (۲) نیز برای فعال کردن جوانه‌های جانبی درخت گردوی ایرانی از GA_3 استفاده کرد که باعث افزایش رشد طولی شاخه‌ها شده بود.

در محیط کشت MS، افزودن زغال فعال و در محیط‌های کشت DKW و DKW ۱/۲، حضور ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان تأثیر معنی‌داری بر درصد جوانه‌های رشد یافته نداشتند (جدول ۱). از آن‌جایی که ریزنمونه‌های مورد بررسی از نهال‌های جوان با ترکیب‌های فنولی کم تهیه شد، حضور این ترکیب‌ها که برای کاهش اثرهای منفی ترکیب‌های فنولی در محیط‌های کشت به کار برده شدند اثر معنی‌داری بر مقدار رشد و استقرار ریزنمونه‌ها نشان ندادند. وجود PVP در هر دو محیط کشتDKW ۱/۲ و DKW موجب کاهش درصد جوانه‌های رشد یافته و هم‌چنین کاهش شاخص‌های رشد گردید (جدول ۱). امام (۲) برای

۱- Gibberellic acid 3(GA_3) ۲- Polyvinylpyrrolidone(PVP) ۳- α-Naphthalene acetic acid(NAA)
۴- Indolebutyric acid(IBA)

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]
[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

استقرار جوانه‌های بالغ گردو از آنتی‌اکسیدان‌های اسکوربیک‌اسید و PVP به‌ترتیب در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۵۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده کرد و موفق به مهار ترشح ترکیب‌های فنولی و بهبود استقرار جوانه‌ها شد. هم‌چنین، Li و همکاران (۱۹) از غلظت‌های متفاوت PVP در استقرار جوانه‌های یک گونه وحشی بالغ پسته (*P. Chinensis*) استفاده کردند و غلظت ۰/۲ درصد را برای مهار قهوه‌ای شدن و بهبود رشد ریزنمونه‌ها مؤثر دانستند. در واقع وجود آنتی‌اکسیدان‌ها در ریز نمونه‌هایی که ترکیب‌های فنولی آن‌ها زیاد است با مهار کردن تراوش ترکیب‌های فنولی در استقرار و رشد جوانه‌ها مؤثر است اما در ریزنمونه‌هایی که دارای ترکیب‌های فنولی کمی هستند، تأثیر منفی بر شاخص‌های رشد دارند. در مقایسه محیط‌های کشت، محیط کشت ۱/۲ DKW بیشترین درصد جوانه‌های رشد یافته را دارا بود که در آن جوانه‌ها در مدت زمان کمتری از زمان کشت (۱۰/۵ روز) نیز شروع به رشد نمودند و نوساقه‌های تولید شده از رشد بهتری برخوردار بودند (شکل۱- الف) به طوری‌که بیشترین شمار برگ در نوساقه را نیز به خود اختصاص داد ولی از نظر طول نوساقه بین ترکیب‌های تیماری در دو محیط DKW با غلظت کامل و نصف عنصرها تفاوت معنی‌داری وجود نداشت (جدول ۱).

جدول ۱- اثر ترکیب محیط‌های کشت بر استقرار ریزنمونه‌های جوانه جانبی پسته بادامی ریز زرند.

Table 1. Effect of culture media composition on establishment of axillary bud explants in pistachio ‘Badami-riz Zarand’.

محیط‌های کشت Culture media	ترکیب‌های افزوده شده Compounds added	جوانه‌های رشد یافته Sprouted buds (%)	روز تا شروع رشد Days to sprouting	طول ساقه Shoot length (cm)	شمار برگ در نوساقه Number of leaves per new shoot
MS	$2gL^{-1}$ AC+$0.5mgL^{-1}$GA	35 ± 9.01^{b}	16.25^{abc}	2.84^{ab}	5.25^{ab}
MS	$2gl^{-1}$ AC£	10 ± 11.54^{bc}	15.00^{abc}	2.05^{b}	2.00^{d}
MS	$0.5mgL^{-1}$GA	27.58 ± 17.1^{bc}	17.37^{ab}	3.44^{a}	4.66^{ab}
MS	-	12.5 ± 12.7^{bc}	16.25^{abc}	2.32^{b}	1.33^{d}
DKW	AN	37.5 ± 9.14^{b}	17.50^{a}	2.83^{ab}	4.66^{ab}
DKW	PVP	11 ± 5.91^{bc}	10.33^{c}	1.10^{c}	3.00^{c}
DKW	-	50 ± 19.27^{ab}	13.20^{abc}	2.83^{ab}	4.00^{abc}
1/2DKW	AN	75 ± 16.68^{a}	15.16^{abc}	2.80^{b}	3.83^{c}
1/2DKW	$100mgL^{-1}$PVP	56.5 ± 19.11^{ab}	13.33^{abc}	2.05^{b}	2.87^{d}
1/2DKW	-	75 ± 16.68^{a}	10.50^{c}	2.16^{b}	5.75^{a}

Means followed by the same letters in each colomn are not significantly different at 5% probability level using LSD test. £ AC: Active coal, AN: $100mgL^{-1}$Citric acid+$150mgL^{-1}$Ascorbic acid

در هر ستون میانگین‌های دارای دستکم یک حرف مشابه، تفاوت معنی‌داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارد. AC: زغال فعال، AN: ۱۰۰ میلی گرم در لیتر اسیدسیتریک +۱۵۰ میلی گرم در لیتر آسکوربیک‌اسید.

با توجه به نتیجه‌ها می‌توان محیط ۱/۲ DKW بدون ترکیب‌های اضافه را بهترین محیط برای استقرار ریزنمونه‌های تهیه شده از دانهال‌های حاصل از کشت بذر در گلخانه شناخت. در مطالعه Li و همکاران (۱۹) نیز در استقرار جوانه‌های گونه‌ای وحشی پسته بیشترین جوانه‌زنی در محیط ۱/۲ DKW بدست آمد، در حالی که Tilkat و همکاران (۲۳) محیط کشت MS را برای استقرار جوانه‌های پسته مناسب دانسته‌اند. برتری محیط ۱/۲ DKW در استقرار ریزنمونه‌ها نسبت به محیط DKW کامل ناشی از این است که هرچه غلظت نمک‌ها در محیط کشت کمتر باشد به علت کاهش فشار اسمزی محیط کشت، امکان جذب آب و ماده‌های غذایی بیشتری برای ریزنمونه فراهم و بدین ترتیب حالت شادابی ریزنمونه حفظ می‌شود و از این راه به رشد آن‌ها کمک می‌کند.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

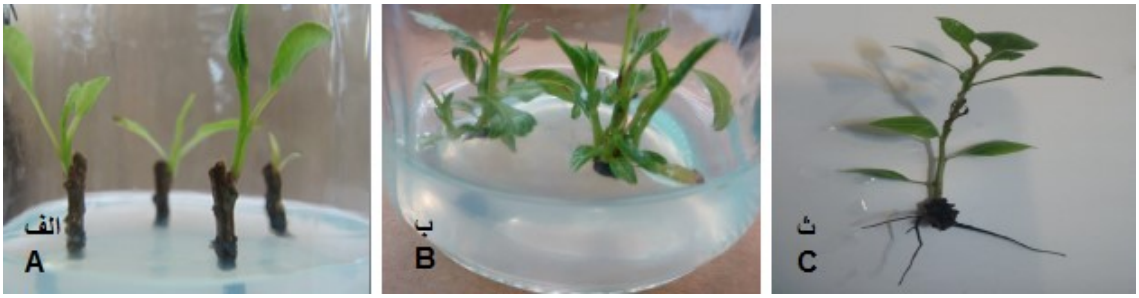


Fig. 1. The establishment of buds on the ½ DKW medium (A), proliferation in the DKW culture medium supplemented with 1 mg L^{-1} BA and 0.2 mg L^{-1} GA (B), and rooting in the ½ MS medium containing 2 mg L^{-1} IBA and 0.05 mgL^{-1} NAA (C).

شکل ۱- استقرار جوانه‌ها روی محیط کشت ۱/۲DKW (الف)، پرآوری در محیط کشت DKW تکمیل‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر GA (ب) و ریشه‌دهی در محیط کشت ۱/۲MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA (ت).

مرحله پرآوری نوساقه‌ها

بر اساس نتیجه‌های به‌دست آمده از تجزیه واریانس داده‌ها در مرحله پرآوری نوساقه‌ها اختلاف معنی‌داری بین محیط‌های کشت وجود داشت و هم‌چنین غلظت BA اثر معنی‌داری بر شمار نوساقه در ریزنمونه، طول نوساقه و شمار برگ در هر نوساقه داشت. افزون بر این، برهمکنش سه جانبه محیط کشت و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد BA و GA_3 بر ویژگی‌های مورد بررسی معنی‌دار بود که بیانگر این است که در هر محیط کشت، اثر غلظت‌های تنظیم‌کننده‌های رشد متفاوت بوده و هم‌چنین مقدار اثر یک عامل به سطوح عامل دیگر بستگی دارد. با توجه به نتیجه‌های مقایسه میانگین‌ها (جدول ۲) در محیط کشت DKW ۱/۲، بیشترین شمار نوساقه در تیمارهای ۱ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA_3 (به‌ترتیب ۶ و ۵ نوساقه در ریزنمونه) و هم‌چنین تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA (۵/۵ نوساقه در ریزنمونه) به‌دست آمد شکل (۱-ب). افزودن GA_3 به مقدار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر به تنهایی در محیط کشت DKW ۱/۲ تأثیر معنی‌داری بر طول نوساقه، شمار نوساقه و شمار برگ نداشت، اما در ترکیب با ۱ یا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA افزایش معنی‌دار شمار نوساقه‌های تولیدی در هر ریزنمونه را موجب گردید (جدول ۲). در محیط کشت DKW تیمارهای دارای غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به تنهایی و یا همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA_3 از میانگین شمار نوساقه بالایی برخوردار بودند ولی تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با دارا بودن میانگین ۵ نوساقه در هر ریز نمونه و هم‌چنین میانگین طول نوساقه‌ها به مقدار ۱/۵۲ سانتی‌متر و به علاوه شمار ۴/۱۳ برگ در ریزنمونه از برتری نسبت به دیگر تیمارها برخوردار بود (جدول ۲). در بررسی اثر محیط‌های کشت مختلف توسط Garcia و همکاران (۱۴)، بیشترین شمار و طول نوساقه در گونه‌های *P. vera* و *P. terebithus* در محیط DKW مشاهده شد.

در محیط کشت MS شمار نوساقه و طول نوساقه به‌دست آمده در مقایسه با دو محیط کشت DKW و ۱/۲DKW کمتر بود ولی تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای هورمونی به کار برده شده از نظر شمار نوساقه تولید شده وجود نداشت. با افزایش غلظت BA در این محیط کشت، رشد طولی ساقه‌ها کاهش یافت. این امر تأثیر سیتوکینین‌ها در از بین بردن چیرگی انتهایی ساقه را نشان می‌دهد که در غلظت‌های زیادتر BA رشد طولی ساقه‌ها کاهش می‌یابد. در مطالعه ریزافزایی *P. lentiscus* (۲۶) ترکیب ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر GA_3 با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA در محیط کشت MS، کاهش شمار نوساقه و افزایش طول نوساقه‌ها را موجب شد و غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA را در محیط کشت MS برای ریزافزایی این گیاه مناسب معرفی گردید. هورمون BA توسط بیشتر پژوهشگران مورد استفاده قرار گرفته است و برتری آن نسبت به دیگر سیتوکینین‌ها مثل کاینتین و تیدیازرون (TDZ) گزارش شده است (۱۸). در این خصوص Tilkat و همکاران (۲۳) سیتوکینین BA را برای پرآوری پسته خنجوک در مقایسه با کاینتین مناسب‌تر دانسته‌اند.

به‌طور کلی، استفاده از هورمون‌ها در محیط MS تأثیر معنی‌داری بر افزایش شمار نوساقه و مقدار رشد آن‌ها نداشت، در حالی‌که در محیط DKW غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA موجب افزایش شاخه‌زایی گردید. شمار نوساقه تولید شده در هر ریزنمونه به‌عنوان معیاری از کارایی تولید گیاهچه و طول نوساقه و شمار برگ آن به‌عنوان معیاری از کیفیت نوساقه‌های

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

تولیدی در ریزافزایی حائز اهمیت می‌باشد. از آن‌جا که کلسیم در محیط کشت DKW زیادتر بوده و بیشتر به‌صورت نمک نیترات کلسیم مصرف می‌شود و سمیت کلر در آن کمینه است، شاید توانسته در بهبود افزایش و شاخه‌زایی مؤثر باشد.

جدول۲- برهمکنش محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA و GA روی برخی ویژگی‌های مورد بررسی پسته بادامی ریز زرند در مرحله پرآوری.

Table 2. Interaction effect of culture medium and different concentrations of BA and GA on some studied traits of pistachio 'Badami-riz Zarand' in proliferation stage.

محیط کشت Culture medium	BA (mgL^{-1})	GA_3 (mgL^{-1})	شمار نو ساقه در ریزنمونه Shoot number/ explants	طول نو ساقه (cm) Shoot length	شمار برگ در نوساقه Number of leaves per new shoot
DKW	0.5	0	2.00^{ef}	0.52^{d-f}	2.50^{e-h}
		0.5	2.50^{de}	0.46^{ef}	1.66^{h}
	1	0	5.00^{ab}	1.52^{b}	4.13^{a-c}
		0.5	3.60^{cd}	1.30^{bc}	3.31^{c-f}
	2	0	4.30^{bc}	0.68^{d-f}	2.44^{f-h}
		0.5	5.00^{ab}	1.00^{c-f}	3.49^{c-f}
1/2 DKW	0.5	0	5.50^{ab}	0.58^{d-f}	2.98^{c-g}
		0.5	2.66^{de}	0.63^{d-f}	2.55^{e-h}
	1	0	2.50^{de}	0.47^{ef}	2.00^{gh}
		0.5	5.00^{ab}	0.80^{c-f}	3.68^{b-e}
	2	0	1.00^{f}	1.10^{c-f}	3.44^{c-f}
		0.5	6.00^{a}	0.58^{d-f}	2.74^{d-h}
MS	0.5	0	1.75^{ef}	2.33^{a}	4.66^{ab}
		0.5	2.00^{ef}	0.57^{d-f}	3.84^{a-d}
	1	0	1.92^{ef}	0.58^{d-f}	3.84^{a-d}
		0.5	1.75^{ef}	1.53^{b}	5.00^{a}
	2	0	3.00^{de}	0.73^{c-f}	3.92^{a-d}
		0.5	1.80^{ef}	1.32^{bc}	2.75^{c-f}

Means followed by the same letters in each colomn are not significantly different at 5% probability level using LSD test

در هر ستون میانگین‌های دارای دستکم یک حرف مشابه، تفاوت معنی‌داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارد.

مرحله ریشه‌زایی نوساقه‌ها

نتیجه‌های تجزیه واریانس داده‌ها در مرحله ریشه‌زایی نشان داد که بین دو محیط کشت MS ۱/۲ و MS ۱/۳ اختلاف معنی‌داری از نظر شمار ریشه در هر ریزنمونه وجود نداشت ولی طول ریشه زیر تأثیر محیط کشت قرار گرفت. بین غلظت‌های مختلف اکسین‌ها نیز اختلاف معنی‌داری از نظر شمار و طول ریشه‌ها مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها (جدول ۳) نشان داد در محیط ۱/۳MS، افزایش غلظت IBA از ۱ به ۲ میلی‌گرم در لیتر باعث افزایش درصد ریشه‌زایی گردید و بیشترین درصد ریشه‌زایی (۵۲/۶۳٪) در محیط کشت MS ۱/۳ در ترکیب ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد. از لحاظ طول ریشه در محیط کشت MS ۱/۳ بین ترکیب‌های هورمونی تفاوت معنی‌داری نبود، اما از لحاظ شمار ریشه، بیشترین شمار (۲ ریشه در ریزنمونه) در ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA حاصل شد که با ترکیب‌های هورمونی دیگر در این محیط کشت تفاوت معنی‌داری نداشت.

افزایش غلظت هر دو نوع اکسین به‌کار رفته اثر مثبتی بر درصد ریشه‌زایی در محیط MS ۱/۲داشت، به طوری‌که در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA بیشترین مقدار ریشه‌زایی (۸۶/۳۶٪) به‌دست آمد در حالی‌که در محیط ۱/۳MS افزایش غلظت اکسین‌های به کار رفته تأثیر معنی‌داری بر مقدار ریشه‌زایی نداشت. هم‌چنین، افزایش این دو

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

اکسین بر طول و شمار ریشه اثر مثبت داشت به‌طوری که بیشترین طول ریشه (۴/۴۸ سانتی‌متر) و شمار ریشه (۴/۵۰) در ترکیب هورمونی ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد که اختلاف چشمگیری نسبت به دیگر ترکیب‌های هورمونی در هر دو محیط کشت داشت (شکل ۱- ت). با توجه به برهمکنش دو هورمون با استفاده از ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، افزایش NAA اثر معنی‌داری بر درصد ریشه‌زایی و شمار و طول ریشه نداشت. در مطالعه Li و همکاران (۱۹) نیز بیشترین شمار و طول ریشه *P. chinensis* در بیشترین غلظت IBA و NAA به‌دست آمد و هم‌چنین Tilkat و همکاران (۲۳) در بررسی اثر غلظت‌های مختلف IBA (صفر تا ۴ میلی‌گرم در لیتر) روی ریشه‌زایی *P. khinjuk* گزارش کردند که با افزایش غلظت این هورمون شمار ریشه‌ها افزایش می‌یابد.

جدول ۳- برهمکنش نوع محیط کشت و ترکیب هورمونی بر ویژگی‌های مورد بررسی در مرحله ریشه‌زایی.

Table 3. Interaction effect of culture medium and plant growth regulators composition on studied traits in rooting stage.

محیط کشت Culture medium	ترکیب تنظیم‌کننده رشد Growth regulators composition (mgL^{-1})	درصد ریشه‌زایی Rooting percentage	طول ریشه Root length	شمار ریشه در ریزنمونه Root number/Explant
1/3 MS	1 IBA + 0.05 NAA	31.27±26.1^{b}	1.75^{b}	2.00^{b}
	1 IBA + 0.02 NAA	13.33±18.5^{b}	1.25^{b}	1.00c
	2 IBA + 0.05 NAA	44.44±27.1^{ab}	1.03^{b}	1.60^{bc}
	2 IBA + 0.02 NAA	52.3±27.1^{ab}	1.43^{b}	1.80^{bc}
1/2 MS	1 IBA + 0.05 NAA	37.50±26.1^{b}	0.97^{b}	1.00c
	1 IBA + 0.02 NAA	13.33±18.5^{b}	1.00^{b}	1.00c
	2 IBA + 0.05 NAA	86.36±19.1^{a}	4.48^{a}	4.50^{a}
	2 IBA + 0.02 NAA	52.63±27.1^{ab}	1.87^{b}	1.25^{bc}

Means followed by the same letters in each colomn are not significantly different at 5% probability level using LSD test

در هر ستون میانگین‌های دارای دستکم یک حرف مشابه، تفاوت معنی‌داری با آزمون LSD در سطح احتمال آماری ۵ درصد ندارند.

نوع و غلظت اکسین‌های مورد استفاده بر درصد تشکیل ریشه به مقدار چشمگیری تأثیر می‌گذارد. تمایز سرآغازه‌های ریشه از یاخته‌های پارانشیم آوند آبکش به نوع و غلظت اکسین مورد استفاده بستگی دارد (۲۲). هورمون IBA به‌طور گسترده برای ریشه‌زایی گونه‌های چوبی که به سختی ریشه‌دار می‌شوند به کار می‌رود (۲۱) و تأثیر ترکیب هورمون‌های خانواده اکسین از جمله IBA و NAA بر ریشه‌زایی گونه‌های مختلف درختی، توسط Chalupa (۱۲) مثبت ارزیابی شده است. به‌طورکلی، ترکیب ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA با بیشترین مقدار طول و شمار ریشه و هم‌چنین درصد ریشه‌زایی در محیط کشت MS ۱/۲، مؤثرترین تیمار بود.

نتیجه‌گیری

به‌طورکلی، می‌توان گفت محیط DKW ۱/۲ بدون ترکیب‌های آنتی‌اکسیدان یا زغال فعال برای استقرار ریزنمونه‌های تهیه شده از دانهال‌های رقم بادامی ریز زرند مناسب می‌باشد و در مرحله پرآوری محیط کشت DKW حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و محیط کشت DKW ۱/۲ با ترکیب ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر GA_3 از کارایی قابل توجهی درشاخه‌زایی برخوردار بودند و می‌توانند به‌منظور ریزافزایی مورد استفاده قرار گیرند. به‌منظور ریشه‌زایی نوساقه‌های تولید شده، از محیط کشت MS با غلظت ۱/۲ به همراه ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA که از درصد ریشه‌زایی و هم‌چنین رشد ریشه بیشتری برخوردار بود می‌توان استفاده نمود.

منابع

References

۱. اسماعیل‌پور، ع. ۱۳۷۶. بررسی اثرات پایه و پیوندک پسته. گزاش نهایی طرح پژوهشی، مؤسسه تحقیقات پسته کشور- رفسنجان. ۱۶ صفحه.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

۲. امام، م. ۱۳۸۳. بررسی افزایش غیرجنسی گردوی بالغ ایرانی (*Juglans regia*) با کشت سرشاخه‌های انتهایی. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۶۳: ۱۵-۱۰.

۳. امام، م.، ع. قمری زارع، ک. اسپهبدی، ط. سهیلا نراقی، ش. شهرزاد، ح. زارع و ل. میرجانی. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر محیط کشت، تنظیم‌کننده رشد و ژنوتیپ بر تکثیر درون شیشه‌ای گیاه دارویی تیس (*Sorbus aucuparia* L.). فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ۲۹(۱): ۹۶-۸۵.

۴. باقری، ع. ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت گیاهی (ترجمه). چاپ اول، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۴۰۶ صفحه .

۵. فرجادی، ا.، ف. زرین‌کمر، و. ح. حکم‌آبادی . ۱۳۸۷. مقایسه ویژگی‌های آناتومیکی دو واریته از گونه *Pistacia vera* و بررسی تأثیر شوری و ضربه مکانیکی بر دفرمه شدن میوه. فصلنامه پژوهش و سازندگی، ۸۱ :۷۹-۶۷.

۶. کریمی، ح. ر. ۱۳۸۹. فیلوژنی گونه‌های جنس پسته، چاپ اول، انتشارات پلک، تهران. ۱۰۴ صفحه.

۷. مهدویان، م.، ن. بوذری، و ح. عبدالهی. ۱۳۸۹. اثر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری و ریشه‌زایی پایه رویشی محلب (سنت لوسی ۶۴). مجله به نژادی نهال و بذر، ۲۶ (۱): ۲۷-۱۵.

۸. مهرنژاد، م. ر.، و ا. جوانشاه. ۱۳۸۹. سند راهبردی تحقیقات پسته ایران، چاپ اول، نشر جمهوری، تهران. ۵۵۰ صفحه.

9. Abousalim, A. 1990. Micropropagation and micrografting of pistachio *(P. vera* L. and *P.atlantica* Desf.) PhD Thesis, Department of Horticulture. Wye College, University of London. 207 pp.
10. Barghchi, M. 1982. In vitro propagation of Pistacia species. PhD Thesis, Nottingham University,UK. 117pp.
11. Can, C., M. Ozaslan, H. Toremen, K. Sarpkaya, and E. Iskender. 2006. In vitro micrografting of pistachio, *Pistacia vera* L. var. *Siirt*, on wild pistachio rootstocks., J. Cell Mol. Biol., 5: 25-31.
12. Chalupa, V. 1987. Effect of benzyl amino purine and thydiazuron on in vitro shoot proliferation of *Tilia cordata* Mill., *Sorbus aucuparia* L. and *Robinia pseudoacaciae* L. Biol. Plant., 29(6): 425-429.
13. Debergh, P., J. Aitken-Christie D. Cohen, B. Grout, S. von Arnold, R. Zimmerman and M. Ziv. 1992. Reconsideration of the term 'vitrification' as used in micropropagation. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30: 135–140.
14. Garcia. E., I. Imbroda, P. Lorente, J.A. Marín, A. Arbeloa, I.M.G. Padilla, A. Barceló, and P. Andreu. 2012. Micropropagation and *in vitro* grafting techniques to assist the selection of a pistachio rootstock from a population of terebinth (*Pistacia terebinthus* L.) collected in the SE of Spain. Int. Soc. Hor. Sci., 961(31): 245-252.
15. George, E. F., P. C. Debergh. 2008. Micropropagation: Uses and methods. In: George, E.F., Hall, M. A., Deklerk, G. J. (Eds). Plant Propagation by tissue culture. The Netherlands: Springer. p.29-64.
16. Hamill, S. D., J. A. Moisander, M. K.Smith. 2009. Micropropagation of vegetatively propagated crops: accelerating release of new cultivars and providing important source of clean plant material. Acta Hor., 829: 213-218.
17. Jeong, J.H. 1996. In vitro propagation of bulb scale section of several Korean native lilies. Acta Hort. 414: 269-276.
18. Kadota, M. and Y. Niimi. 2003. Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *In vitro* pear cultivars shoots. Plant Cell, Tiss. Organ Cul. 72: 261-265.
19. Li, M., J. Hou, Q. An, P. Zhang, M. Tang, and L.Wu. 2011. Regeneration and rapid propagation from stem explants of *Pistacia Chinensis* Bunge. International Conference on Agricultural and Natural Resources. Venice, Italy, 23-25 Nov.
20. Parfitt, D. E,. and A. A. Almehdi. 1994. Use of high Co_2 atmosphere and medium modifications for the successful micropropagation of pistachio. Sci. Hort., 56, 321-329.
21. Rathore, J. S., M.S. Rathore, M. Singh, and N. S. Pyshekhawat. 2007. Micropropagation of mature tree of *Citrus limon*. Indian J. Biotechnol. 6: 239-244.
22. Sabatini, S., D. Beis, H. Wolkenfelt, J. Murfett. 1999. An auxin-dependent distal organizer of pattern and polarity in the Arabidopsis root. Cell, 99(5): 463-472.
23. Tilkat, E,. C. Işıkalan, and A. Onay. 2005. Invitro propagation of khinjuk pistachio (*Pistasia khinjuk* stocks) through seedling apical shoot tip culture. Propag. Ornam. Plants 5(3): 1-5.
24. Tilkat, E., S. Namli, and C. Isikalan. 2011. Determination and assessment of the sex chromosomes of male trees of pistachio (*Pistacia vera* L.) using in vitro culture. Acad. J. Sci. Res. 5(3): 291-295.
25. Tilkat, E., V. Suzerer, H. Akdemir, E. A. Tilkat, Y. O. Ciftci, and A.Onay. 2013. A rapid and effective protocol for surface sterilization and in vitro culture initiation of adult male pistachio (*Pistacia vera* L. cv. "Atlı"), Acad. J. Sci. Res. 1(8): 134-141.
26. Yildirim, H. 2012. Micropropagation of *Pistacia lentiscus* L. from axenic seedling-derived explants. Sci. Hort. 137: 29–35.

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]

Iranian Journal of Horticultural Science and Technology 20 (4): 369 - 376 (2019)
Research article

Optimizing *in vitro* Culture of *Pistacia vera* 'Badami-Riz-Zarand' Using Axillary Buds

Z. Bahramnezhad, A. A. Mohammadi Mirik*, H. Dashti, H. R. Karimi and A. Tajabadipour[1]

Pistacia vera 'Badami-Riz-Zarand' is used as rootstock in Iranian pistachio orchards due to the low sensitivity to the *Phytophthora*, resistance to salinity, and graft compatibility with commercial cultivars. In this study, the effects of culture media (MS and DKW) along with type and concentration of plant growth regulators were investigated on micropropagation of this rootstock. The highest growth of explants was obtained in ½ DKW culture media. Supplementing the culture media with antioxidants and activated charcoal has no significant effect on explants establishment. Most of the microshoots (5 to 6 microshoot in each explant) were induced on DKW+1 mg L^{-1} BA, DKW+2 mg L^{-1} BA + 0.5 mg L^{-1} GA, and also on ½ DKW culture media supplemented with 0.5 mg l^{-1} BA or combination of 1 or 2 mg L^{-1} BA + 0.5 mg L^{-1} GA, whereas, the length of the microshoots were higher in MS medium (3.84 to 5 cm). At rooting stage, half strength MS media supplemented with 2 mg L^{-1} IBA and 0.05 mg L^{-1} NAA showed the highest root length (4.48 cm), number of roots per microshoot (4.5), and rooting frequency (86.36%).

Keywords: Pistachio, Micropropagation, Plant Growth Regulators, Proliferation, Establishment.

1. M.Sc. Student of Plant Breeding, Assistant Professor and Professor, Department of Genetics and Crop Production, Professor, Department of Horticultural Science, Vali-e-Asr University of Rafsajan, Faculty member, Pistachio Research Center, Horticultural Sciences Research Institute, Education and Extension Organization, Rafsanjan, Iran, respectively.
* Corresponding author, Email: (aa.mohammadi@vru.ac.ir).

[Downloaded from journal-irshs.ir on 2026-10-31]

[DOR: 20.1001.1.16807154.1398.20.4.1.4]