

## تعیین بهترین محیط بستر در مقاوم‌سازی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده چای

رضا آزادی گنبد

پژوهشکده چای، موسسه تحقیقات علوم باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، لاهیجان، ایران

\*azadi\_g@yahoo.com

### چکیده

تکنیک کشت بافت به دلیل تولید انبوه نهال‌های قوی و یکدست در زمان کوتاه، گزینه‌ای مناسب برای اهداف به‌نژادی گیاه چای است. این تحقیق برای مقاوم‌سازی و تعیین بهترین محیط بستر گیاهچه‌های ریشه‌دار شده کلون ۱۰۰ چای انجام شده است. آزمایش به‌صورت فاکتوریل شامل فاکتور a، استفاده از محلول هوگلند (a1) و عدم استفاده از محلول هوگلند (a2) و فاکتور b که شامل سه ترکیب بستی؛ خاک + پیت + ورمی کوئیت + ماسه (b1)، پیت + ورمی کوئیت + ماسه (b2) و خاک + ورمی کوئیت + ماسه (b3)، در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار و شش مشاهده انجام شد. نتایج نشان داد که تعداد ریشه‌های نهال در تیمار a1b1 با ۷/۳۳ عدد ریشه بیشترین و تیمار a2b3 با ۱/۳۳ عدد ریشه برای هر نهال کمترین مقدار تعداد ریشه را داشت. از نظر طول ریشه، تیمار a1b1 با ۲/۰۱ سانتی‌متر بلندترین طول ریشه و تیمار a2b3 با ۰/۲۳ سانتی‌متر کوتاه‌ترین طول ریشه را داشت. از نظر تعداد شاخساره، تیمار a1b1 با ۴/۰ عدد بیشترین تعداد شاخساره و تیمار a2b3 با ۱/۰ عدد کمترین تعداد شاخساره را داشت. از نظر طول شاخساره، تیمار a1b1 با ۷/۶۰ سانتی‌متر بلندترین طول شاخساره و تیمار a2b3 با ۲/۳۳ سانتی‌متر کوتاه‌ترین طول شاخساره داشت. از نظر تعداد برگ، تیمار شماره a1b1 با ۷/۰ برگ بیشترین و تیمار a2b3 با ۲/۰ عدد کمترین تعداد برگ را داشت. در مجموع می‌توان گفت تیمار محلول هوگلند + خاک + پیت + ورمی کوئیت + ماسه بهترین محیط برای مقاوم‌سازی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده چای است.

**کلمات کلیدی:** چای، کشت بافت، پیت، ماسه، ورمی کوئیت و هوگلند.

### مقدمه

گیاهی دگرگشن است، بنابراین تفرق صفات در گیاهان حاصل از بذر مشاهده می‌شود، در نتیجه هر کدام از درختچه‌ها دارای ژنوتیپ متفاوتی از دیگری هستند که سبب می‌شود عملکرد و کیفیت این درختچه‌ها با یکدیگر یکسان نباشد. با توجه به محدودیت شدید زمین‌های کشاورزی و تراکم جمعیت در استان‌های گیلان و مازندران، امکان افزایش سطح زیر کشت کم است. لذا با اعمال مدیریت مناسب به‌باغی و به‌نژادی می‌توان عملکرد را در واحد سطح افزایش داد. در حال حاضر اکثر باغ‌های چای ایران بذری با متوسط سن بوته بیش از ۵۰ سال است که نتیجه آن باعث کاهش عملکرد و کیفیت چای تولیدی ایران شده است. طی این سال‌ها کشاورزان به‌جای کشت نهال‌های جدید و برتر چاره‌ای جز جوان‌سازی بوته با عملیات هرس نداشته‌اند. استفاده از این روش‌ها هیچ‌گاه نمی‌تواند گزینه مناسب و مطمئنی برای جایگزینی و کشت نهال‌های جدید و برتر به‌جای بوته‌های پیر و بدون کیفیت باشد. لذا ضروری است که بوته‌های قدیمی ریشه‌کن شده و نهال‌های جوان و برتر بجای آن‌ها کشت شوند. این موضوع یکی از دغدغه‌های دولت و از اهداف اصلی اصلاح ساختار در چای کشور در آینده نه‌چندان دور خواهد بود. با توجه به سطح زیر کشت چندین هزار هکتاری اراضی چایکاری ایران برای انجام اصلاح و نوسازی باغ‌های چای کشور به تولید تعداد زیادی

چای یکی از مهم‌ترین نوشیدنی‌های غیرالکلی در جهان می‌باشد و این سبب افزایش محبوبیت آن به‌عنوان یک نوشیدنی سالم شده است. چای با نام *Camilla sinensis* متعلق به خانواده (Teaceae) است. در این خانواده تاکنون ۱۸ جنس و ۲۵۰ گونه شناخته شده است که بعضی از آن‌ها ارزش غذایی دارند و بعضی دیگر زینتی هستند. چای از محصولات باغبانی نیمه گرمسیری و به‌صورت درخت یا درختچه همیشه‌سبز است که در شرایط آب‌وهوای گرم و مرطوب رشد مناسبی دارد. مناطق شمالی کشور (گیلان و مازندران) مناطقی هستند که شرایط مناسب برای کشت و پرورش این محصول را دارند. این محصول در اقتصاد منطقه نقش مهمی را ایفاء می‌کند (ترنگ، ۱۳۹۱). بررسی وضعیت مدیریت باغ‌های چای در منطقه برای فراهم آوردن امکانات اشتغال، بهره‌برداری بهینه از منابع، جلوگیری از مهاجرت بی‌رویه، تضمین ارزش‌های اجتماعی، افزایش تولید و بهره‌وری و در نهایت توسعه پایدار ضروری است. به‌منظور تأمین نیاز داخلی و رسیدن به خودکفائی بایستی به دو موضوع افزایش کیفیت چای داخلی، به جهت ترغیب مصرف‌کنندگان و همچنین افزایش میزان تولید از طریق افزایش عملکرد در واحد سطح و احیاء و واکاری باغ‌های قدیمی توجه خاصی شود. چای با روش‌های کشت بذر، قلمه‌زنی، پیوند و خوابانیدن شاخه تکثیر می‌شود. چای

وجود ندارد که بذور سبز شده ویژگی‌های موردنظر گیاه مادری را داشته باشند. همچنین از راه‌های معمول مانند قلمه زدن نیز نمی‌توان بسیاری از گیاهان را تکثیر کرد؛ اما با استفاده از روش‌های کشت بافت می‌توان در زمان کوتاه تعداد زیادی از یک گیاه مطلوب را تهیه نمود. مزیت دیگر کشت بافت افزایش محصول از طریق تولید گیاهان عاری از آلودگی است. چنانچه گیاه از راه‌های معمول مانند قلمه‌زنی تکثیر شود احتمال انتقال آلودگی‌ها به گیاهان جدید وجود دارد که به‌مرور زمان می‌تواند سبب کاهش محصول گردد اما با استفاده از کشت بافت می‌توان با روش‌هایی آلودگی‌ها را حذف نمود.

گیاه چای خاک‌های اسیدی را ترجیح داده و قادر به رشد در خاک‌های با pH کمتر از ۵ است و بخشی از باغ‌های چای چین و ایران خاک‌هایی با pH زیر ۴/۵ دارند (ما و همکاران، ۲۰۰۰، شیرین فکر و همکاران، ۱۳۹۶). مکانیسم تأثیر منفی pH بالاتر درک نشده است، اما پیشنهاد شده است که اثر pH نامناسب محیط بر جذب مواد مغذی ممکن است مسئول تغییر پدیده‌های رشدی مشاهده شده باشد (وسسی و همکاران، ۱۹۹۰؛ بریکس و همکاران، ۲۰۰۲). حتی در شرایط کنترل شده تر مثل سیستم‌های هیدروپونیک، تولید زیست‌توده گیاهی با توجه به فرم نیتروژن عرضه شده در pH ۵/۰ بیشتر بود، درحالی‌که رشد با شدت بیشتری در pH ۶/۰ نسبت به pH ۴/۰ کاهش یافته، این موضوع نشان می‌دهد که گیاهان چای نسبت به pH محیطی بالا حساس است. درحالی‌که pH تقریباً ۶/۰ برای بسیاری از گیاهان کم‌وبیش بهینه در نظر گرفته می‌شود زیرا آن‌ها به بهترین وجه با در دسترس بودن و جذب مواد مغذی و سمی غالب تحت این شرایط سازگار هستند، اثرات مضر برای برخی از گونه‌های گیاهی گزارش شده است. برای بسیاری از گیاهان، هنگامی که فقط آمونیوم در غلظت‌های بالا تهیه شود، سمی است و رشد گیاه را مختل می‌کند (گرندا و همکاران، ۱۹۹۷؛ بریتو و کرنزوک، ۲۰۰۲). با این حال، برخی از گونه‌های گیاهی به‌خوبی با این منبع نیتروژنی سازگار هستند (بریتو و کرنزوک، ۲۰۰۲). ایشیگاکی (۱۹۷۴) گزارش کرده است که رشد گیاه چای در تغذیه با آمونیوم در مقایسه با نیترات بیشتر شده است. آزمایش‌های کوتاه‌مدت (۲۴ ساعت) موریتانی و همکاران (۱۹۹۸) در گیاه چای نشان داد زمانی که آمونیوم و نیترات در غلظت‌های مشابه مصرف

نهال برای جایگزینی و کاشت نیاز می‌باشد. با توجه به کمبود بسیار شدید باغ‌های بوته مادری و مشکلات مربوط به تکثیر چای از طریق روش‌های سنتی، تکثیر چای از طریق کشت درون شیشه‌ای (کشت بافت) غیرقابل اجتناب می‌باشد. با بهره‌گیری از این روش می‌توان در مدت‌زمان کوتاه به تعداد زیادی گیاه چای سالم با ساختار ژنتیکی یکسان دست‌یافت که به‌صورت مستقیم و غیرمستقیم بر کمیت و کیفیت برگ سبز و چای خشک استحصالی تأثیر گذارد (ترنگ، ۱۳۹۱).

نیازهای غذایی اولیه سلول‌های گیاهی با گیاه کامل شباهت زیادی دارد. عناصر غذایی برای رشد و نمو گیاه ضروری است و بدون آب و عناصر غذایی معدنی، گیاه تحت قادر به ادامه حیات نیست. معمولاً چندین دستور یا پروتکل تهیه محیط کشت برای بیشتر کارهای کشت بافت و سلول مورد استفاده قرار می‌گیرد، مانند محیط‌های کشت: موراشیگ و اسکوگ، وای، گمبورگ و همکاران، شنک و هیلدبرانت، نیچ و نیچ، کوپیرین و لپویور که از میان آن‌ها معروف‌ترین و پر استفاده‌ترین محیط کشت، محیط موراشیگ و اسکوگ است که به محیط MS معروف است. عناصر پرمصرف شامل شش عنصر اصلی نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و گوگرد می‌باشند. غلظت بهینه هر ماده برای حداکثر رشد، بین گونه‌های گیاهی مختلف، متفاوت است. سلول‌ها می‌توانند بر روی نیترات‌ها به‌تثایی رشد کنند، ولی هنگامی که محیط کشت دارای منبع نیتروژنی نیترات و آمونیوم باشد، نتایج کامل‌تری به دست می‌آید (ضیائیان، ۱۳۸۲). برای رشد بیشتر گونه‌های گیاهی پتاسیم مورد نیاز است. اغلب محیط کشت‌ها دارای پتاسیم به‌صورت نیترات و کلرید هستند. غلظت بهینه فسفر، منیزیم، گوگرد و کلسیم از یک تا ۳ میلی‌گرم در لیتر است. عناصر کم‌مصرف اصلی برای کشت بافت و سلول شامل آهن، منگنز، روی بر، مس و مولیبدن می‌باشد. آهن ممکن است مهم‌ترین عنصر کم‌مصرف باشد. آهن معمولاً به شکل کلات استفاده می‌شود (ملکوتی و همکاران، ۱۳۸۴).

از مزایای کشت بافت تولید انبوه و سریع یک رقم مطلوب و یا رقم‌های جدید است. در گیاهان، بذورهای تولید شده کاملاً همانند گیاه مادر خود نیستند (شکل ۱) و با یکدیگر تفاوت دارند. بنابراین یک گیاه مطلوب در منطقه‌ای توسط کشاورزان برگزیده شود و از آن بذر تهیه نمایند، تضمینی

با ۱/۵ گرم بر لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز با استفاده از ترکیب تنظیم‌کننده رشد بنزیل آمینوپورین در غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر و غلظت ثابت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر ژیرلین پرآوری و سپس شاخساره‌های به‌دست‌آمده (طول ۲-۵ سانتی‌متر) در محیط کشت ریشه‌زایی شامل محیط موراشیگی و اسگوگ با ۱/۵ گرم بر لیتر آگار و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و استفاده از ایندول بوتیریک اسید در غلظت ۶۰۰۰ میلی‌گرم در لیتر قرار داده شد. نمونه‌های کشت داده‌شده در فیتوترون با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و فتوپریود ۱۸ ساعت روشنایی نگهداری شدند. در این آزمایش گیاهچه‌های ریشه‌دار شده به محیط‌های بستر در شش سطح متنوع انتقال داده شد. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی شامل: فاکتور a ، a1: استفاده از محیط هوگلند با ۵ pH و a2: عدم بستری (شکل ۱: b1: خاک+پیت+ورمی کولیت+ماسه، b2: پیت+ورمی کولیت+ماسه و b3: خاک+ورمی کولیت+ماسه) با ۳ تکرار و شش تیمار انجام شد.

صفات ارزیابی‌شده در این آزمایش شامل: تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد شاخساره، طول شاخساره و تعداد برگ بوده که نسبت به اندازه‌گیری و ثبت آن‌ها اقدام شد. داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار SAS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. مقایسه میانگین نیز با آزمون LSD و در سطح معنی‌داری ۱ درصد انجام شد.

می‌شوند مقدار بیشتری از آمونیوم نسبت به نیترات جذب می‌شود. در pH ۶/۰ در مقایسه با pH ۵/۰ میزان جذب ویژه آمونیوم و نیترات به ترتیب ۲۲٪ و ۵۵٪ کاهش یافته است. در pH ۶/۰ کاهش رشد ۴۲٪ و ۶۴٪ مشاهده شده برای گیاهانی که به ترتیب آمونیوم و نیترات دریافت می‌کنند.

نیتریفیکاسیون محدود آمونیوم بندرت در شرایط خاک اسیدی مشاهده شده است که این ماده را در این شرایط به یک منبع رایج نیتروژن تبدیل کرده است (اشمیت، ۱۹۸۲؛ کرونزوکر و همکاران، ۲۰۰۳). بریتو و کرونزوکر (۲۰۰۲) گزارش کردند گیاهانی که در pH پایین خاک رشد مناسبی دارند عموماً متحمل به آمونیوم هستند. از دیدگاه تکاملی، اعتقاد بر این است که منشأ گیاه چای جنوب غربی چین است جایی که با سایر گونه‌ها همراه شده تا پوشش گیاهی کلیماکس جنگلی را ایجاد کند. ترجیح چای برای جذب آمونیوم و تمایل کم آن برای جذب نیترات، ممکن است بیانگر موقعیت اکولوژیکی آن به‌عنوان شاخص رایج پوشش گیاهی کلیماکس است.

### مواد و روش‌ها

نمونه‌های گیاهی چای کلون ۱۰۰ از ایستگاه تحقیقاتی شهید اسلامی تهیه شد. جوانه‌های جانبی از شاخساره‌ها جدا شده و در شرایط ضدعفونی شده، ریز نمونه‌ها با استفاده از الکل اتیلیک و وایتکس سترون شد. ریزنمونه‌های سترون‌شده زیر هود کشت بافت در اندازه‌های ۲-۵ میلی‌متر برش زده شده و جهت پرآوری شاخساره در محیط کشت پایه موراشیگی و اسگوگ (MS)



پیت

ورمی کولیت

خاک

شکل ۱- نمونه ترکیب‌های بکار رفته در بسترهای مورد آزمایش

جدول ۱. ترکیب شیمیایی محلول غذایی مورد استفاده ۱/۴ هوگلند و آرنون

ردیف	نام ماده شیمیایی	محلول مادر (گرم در لیتر)	حجم مورد نیاز (میلی لیتر در لیتر)
<b>محلول ماکرو نوترینت</b>			
۱	Ca(H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ).H <sub>2</sub> O	۱۲/۶	۱/۲۵
۲	CaSO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	۱/۷۲	۵۰
۳	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	۸۷	۱/۲۵
۴	MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۲۴۶	۰/۵
<b>محلول کلات آهن</b>			
۵	FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۵/۵۶	۱/۲۵
۶	Na <sub>2</sub> EDTA	۷/۴۵	
<b>محلول میکرو نوترینت</b>			
۸	CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	۰/۰۲۵	۰/۲۵
۹	CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	۰/۰۸۰	
۱۰	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	۲/۸۶	
۱۱	MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	۱/۸۱	
۱۲	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	۰/۰۲۵	
۱۳	ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	۰/۲۲۰	
<b>محلول نیتروژن</b>			
۱۴	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	۸۰/۰۵	۰/۱۷۹

## نتایج

## تأثیر محیط بستر بر تعداد و طول ریشه

نتایج تجزیه واریانس تعیین بهترین محیط بستر در مقاوم‌سازی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده چای در جدول ۱ نشان داد که محلول هوگلند، ترکیب بسترها و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های رشدی تعداد و طول ریشه اندازه‌گیری شده، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. بررسی اثرات ساده مقایسه میانگین‌ها بیانگر بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۵/۷۶ عدد در تیمار استفاده از محلول هوگلند در محیط بستر است که با تیمار بدون استفاده از محیط هوگلند (۲/۶۷ عدد)، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۲).

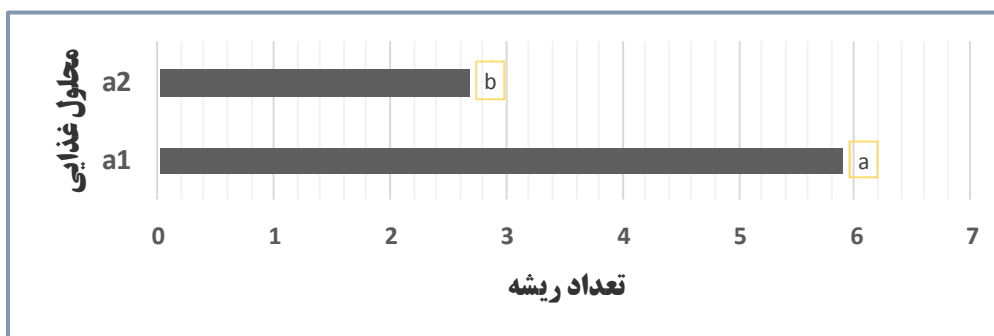
همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده بسترها حاکی از برتری ترکیب بستر خاک+ پیت+ ورمی کولیت+ ماسه (b1) با میانگین ۵/۵ عدد تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها

دارد (شکل ۳). مقایسه میانگین‌ها اثرات متقابل محلول هوگلند × ترکیب بستر بیانگر بیشترین تعداد ریشه (۷/۳ عدد) در تیمار هوگلند + خاک- پیت- ورمی- کولیت- ماسه (a1b1) و تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها است. کمترین تعداد ریشه با تعداد ۴/۳ ریشه نیز به تیمار بدون هوگلند + خاک - ورمی- کولیت- ماسه تعلق دارد (a2b1) (شکل ۴). بررسی اثرات ساده مقایسه میانگین‌ها، بیانگر بیشترین طول ریشه با میانگین ۱/۷۵ سانتیمتر در تیمار استفاده از محلول هوگلند در محیط بستر است که با تیمار بدون استفاده از محیط هوگلند، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۵).

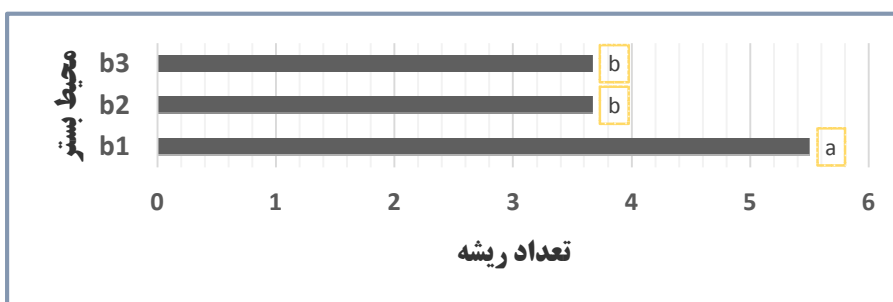
همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده نوع محیط بسترها حاکی از برتری ترکیب بستر خاک+ پیت+ ورمی کولیت+ ماسه با میانگین ۱/۵۰ سانتیمتر و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها است (شکل ۶).

تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها است. کمترین طول ریشه با ۰/۲۳ سانتیمتر نیز به تیمار بدون هوگلند + خاک - ورمی‌کولیت - ماسه (a2b3) تعلق دارد (شکل ۷).

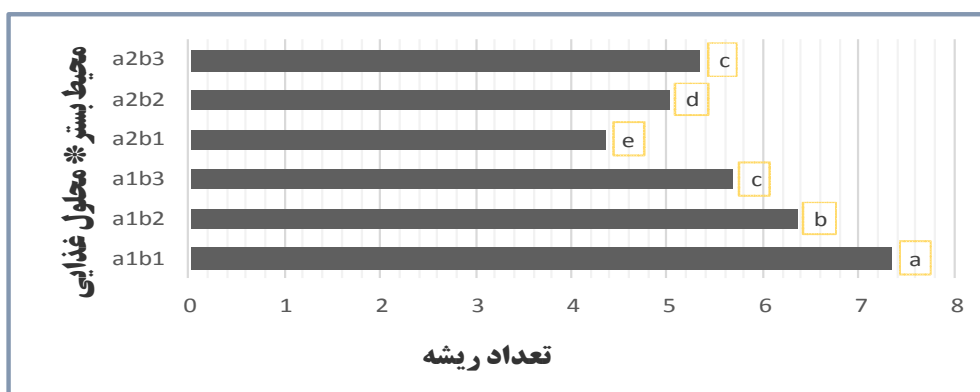
مقایسه میانگین اثرات متقابل محلول هوگلند × ترکیب بستر بیانگر بیشترین طول ریشه ۲/۰۲ سانتیمتر در تیمار با هوگلند + خاک - پیت - ورمی‌کولیت - ماسه (a1b1) و



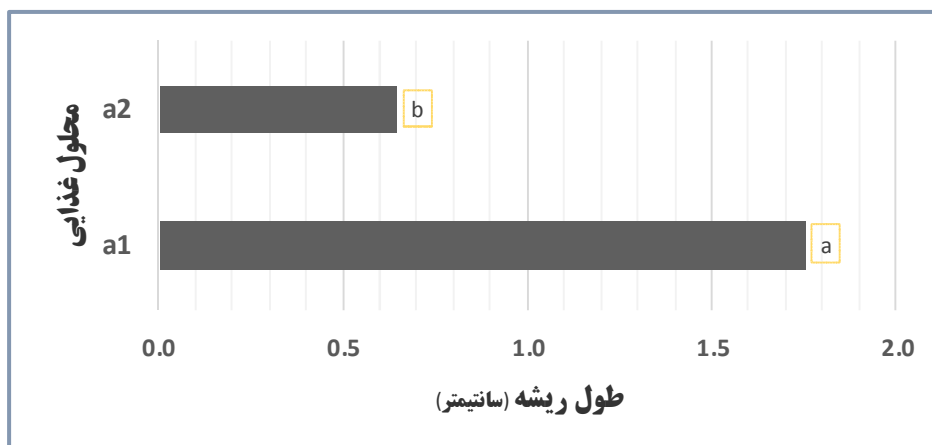
شکل ۲. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر تعداد ریشه



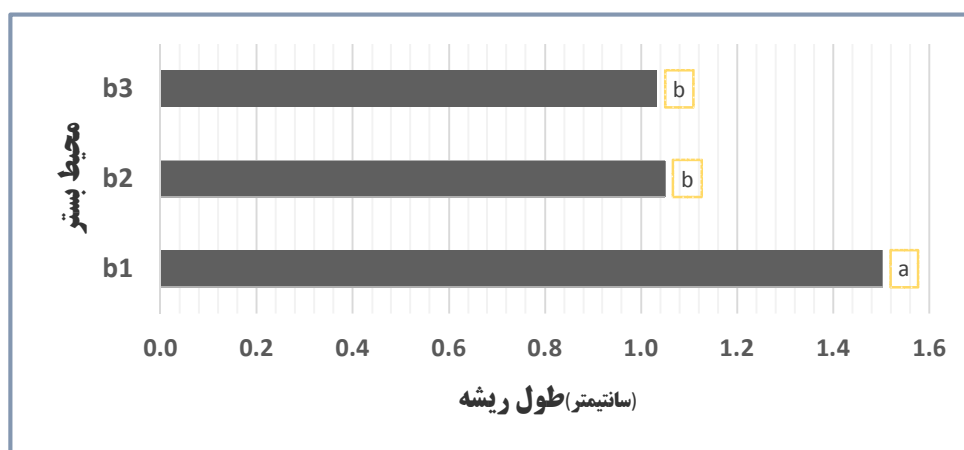
شکل ۳. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر تعداد ریشه



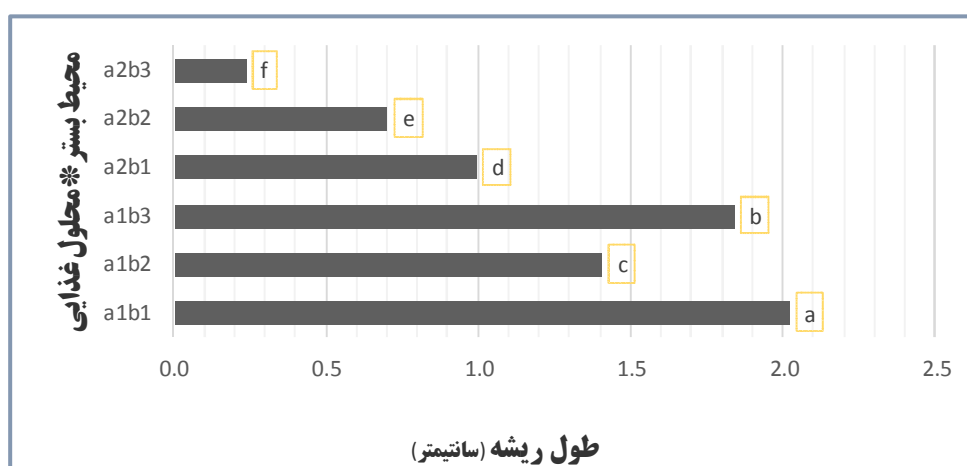
شکل ۴. مقایسه میانگین اثر متقابل محیط‌های بستر و محلول غذایی بر تعداد ریشه



شکل ۵. مقایسه میانگین تأثیر محل غذایی بر طول ریشه



شکل ۶. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر طول ریشه



شکل ۷. مقایسه میانگین تأثیر متقابل محیط‌های بستر و محل غذایی بر تعداد ریشه

## تأثیر محیط بستر بر تعداد و طول شاخساره

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که محلول هوگلند، ترکیب بسترها و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص‌های رشدی تعداد و طول شاخساره اندازه‌گیری شده، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است.

بررسی اثرات ساده مقایسه میانگین‌ها، بیانگر بیشترین تعداد شاخساره با میانگین  $3/22$  عدد در تیمار استفاده از محلول هوگلند در محیط بستر است که با تیمار بدون استفاده از محیط هوگلند، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۸).

همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده حاکی از برتری ترکیب بستر خاک + پیت + ورمی کولیت + ماسه با میانگین ۳ عدد و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها است (شکل ۹).

همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده حاکی از برتری ترکیب بستر خاک + پیت + ورمی کولیت + ماسه با میانگین ۳ عدد و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها است (شکل ۹).

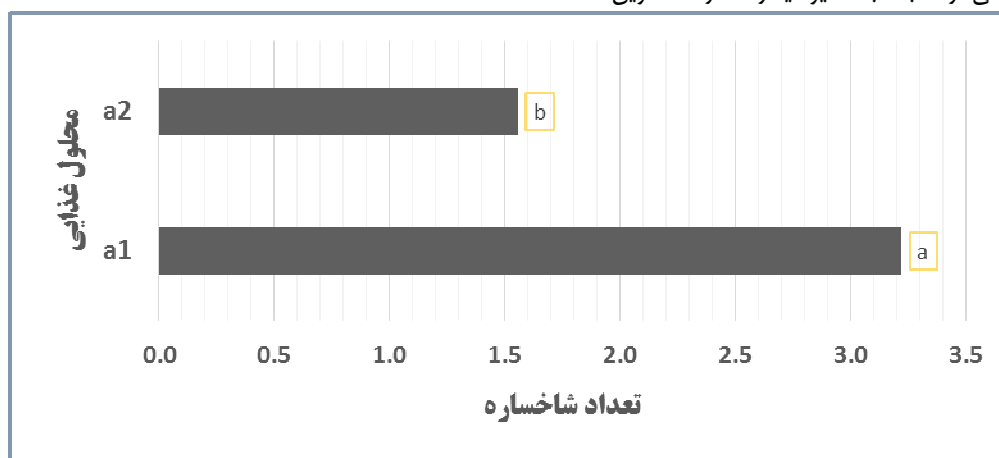
مقایسه میانگین‌ها در بررسی اثرات متقابل محلول هوگلند × ترکیب بستر بیانگر بیشترین تعداد شاخساره (۴ عدد) در تیمار هوگلند + خاک - پیت - ورمی کولیت - ماسه (a1b1) و تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها دارد. کمترین تعداد

شاخساره با تعداد یک شاخه نیز به تیمار بدون هوگلند + خاک - ورمی کولیت - ماسه (a2b3) تعلق دارد (شکل ۱۰).

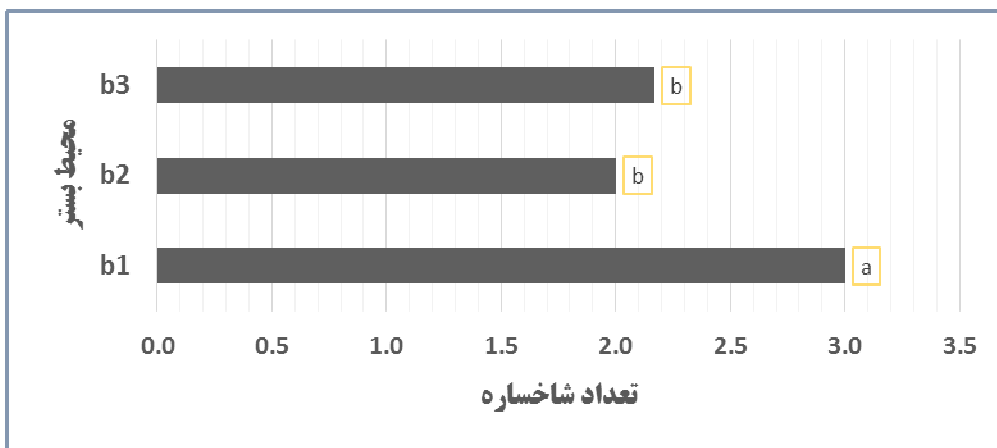
بررسی اثرات ساده مقایسه میانگین‌ها، بیانگر بیشترین طول شاخساره با میانگین  $6/26$  سانتیمتر در تیمار استفاده از محلول هوگلند در محیط بستر است که با تیمار بدون استفاده از محیط هوگلند، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۱۱).

همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده نوع محیط بسترها حاکی از برتری ترکیب بستر خاک + پیت + ورمی کولیت + ماسه با میانگین  $6/08$  عدد و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها است (شکل ۱۲).

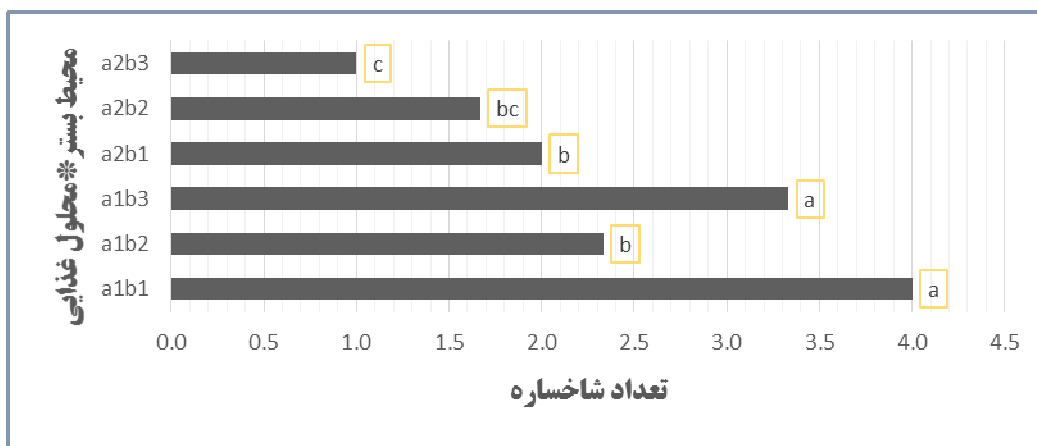
مقایسه میانگین‌ها در بررسی اثرات متقابل محلول غذایی × ترکیب بستر بیانگر بیشترین طول شاخساره  $7/60$  سانتیمتر در تیمار با هوگلند + خاک - پیت - ورمی کولیت - ماسه (a1b1) و تفاوت معنی‌دار نسبت به سایر تیمارها دارد. کمترین طول شاخساره  $2/33$  سانتیمتر نیز به ترکیب تیماری a2b3 تعلق دارد (شکل ۱۳).



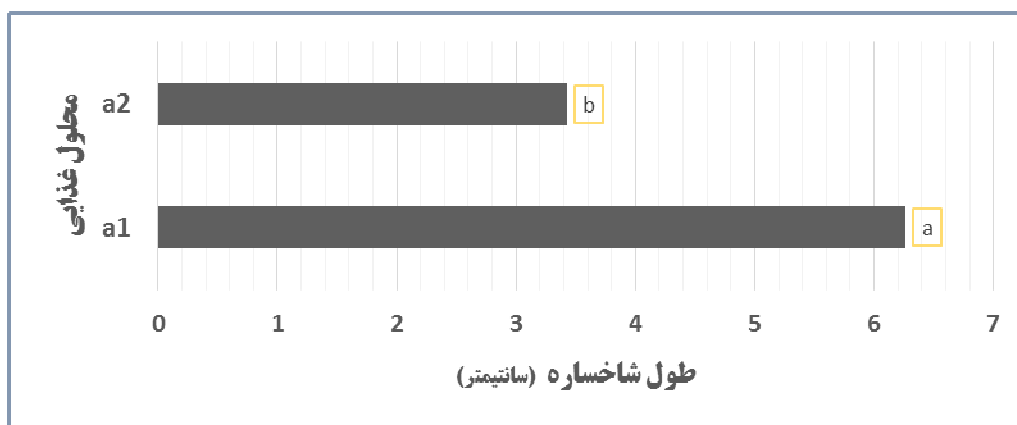
شکل ۸. مقایسه میانگین تأثیر محلول غذایی بر تعداد شاخساره



شکل ۹. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر تعداد شاخساره

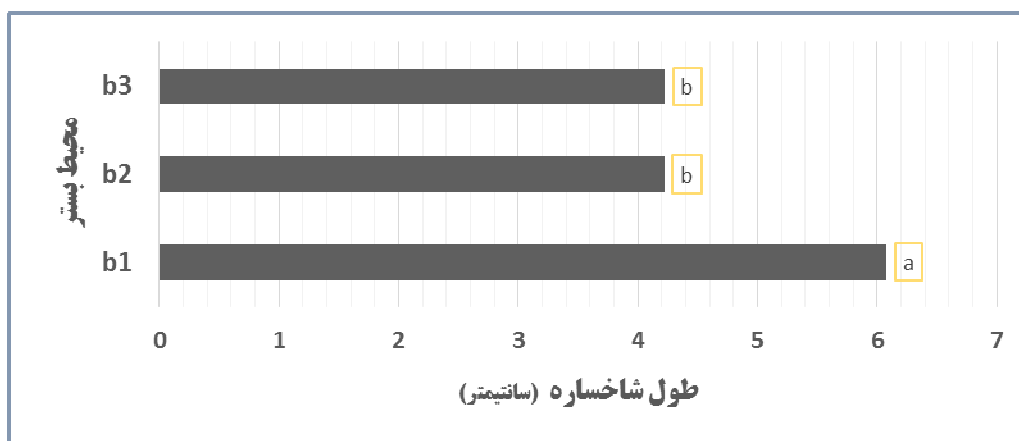


شکل ۱۰. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر و محلول غذایی بر تعداد شاخساره

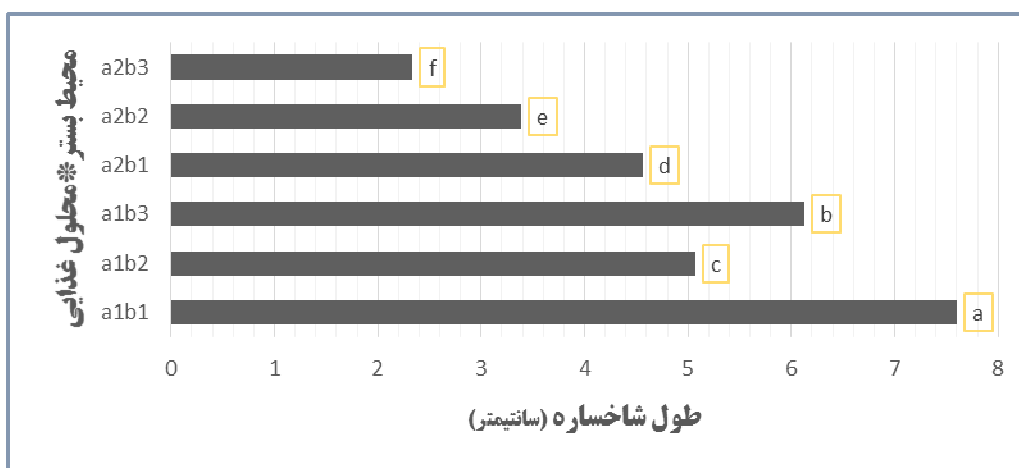


شکل ۱۱. مقایسه میانگین تأثیر محلول غذایی بر طول شاخساره





شکل ۱۲. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر طول شاخساره



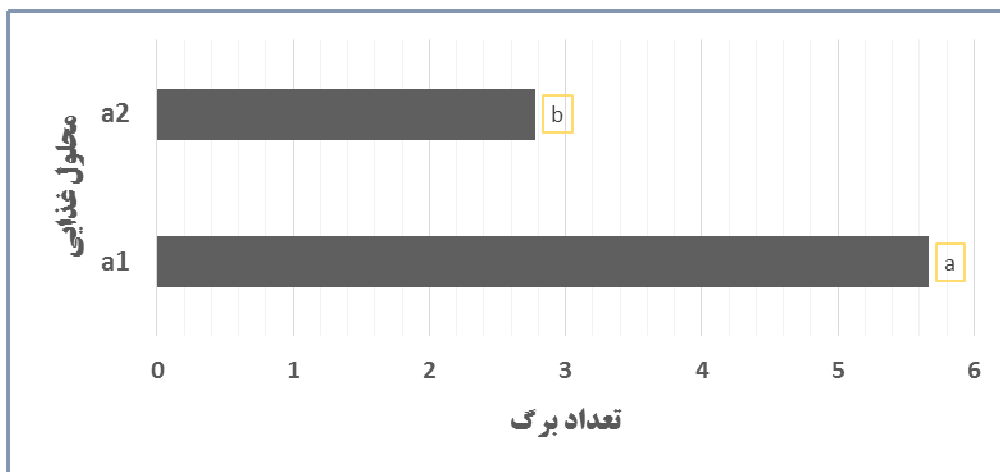
شکل ۱۳. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر و محلول غذایی بر طول شاخساره

همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده تیمار ترکیب بسترها حاکی از برتری ترکیب بستر خاک+ پیت+ ورمی کولیت + ماسه (b1) با میانگین ۵/۱۷ عدد و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها است (شکل ۱۵).

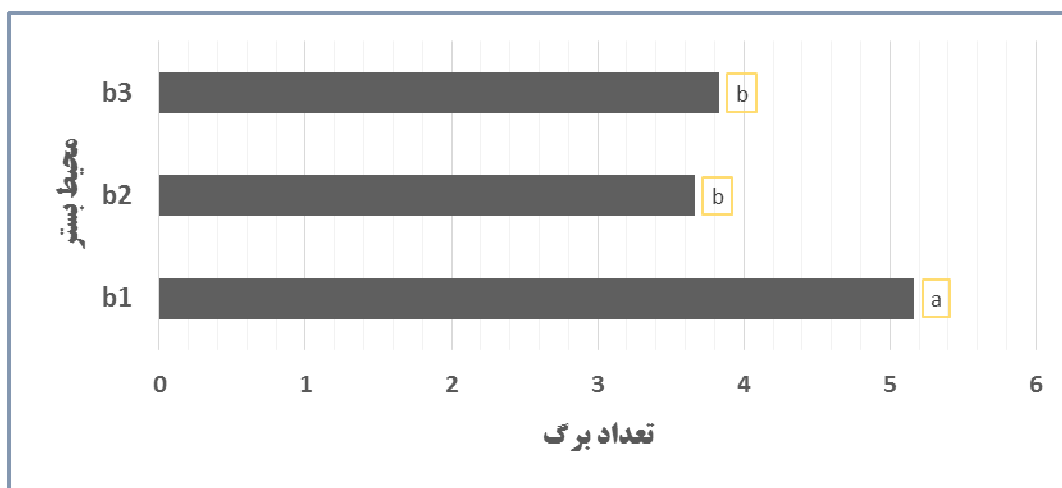
مقایسه میانگین‌ها اثرات متقابل محلول هوگلند × ترکیب بستر بیانگر بیشترین تعداد برگ (۷ عدد) در تیمار هوگلند + خاک- پیت- ورمی- کولیت- ماسه (a1b1) و تفاوت معنی دار نسبت به سایر تیمارها است. کمترین تعداد برگ با تعداد ۲ برگ نیز به تیمار بدون هوگلند + خاک- ورمی- کولیت- ماسه (a2b3) تعلق دارد (شکل ۱۶).

#### تأثیر محیط بستر مقاوم‌سازی بر تعداد برگ

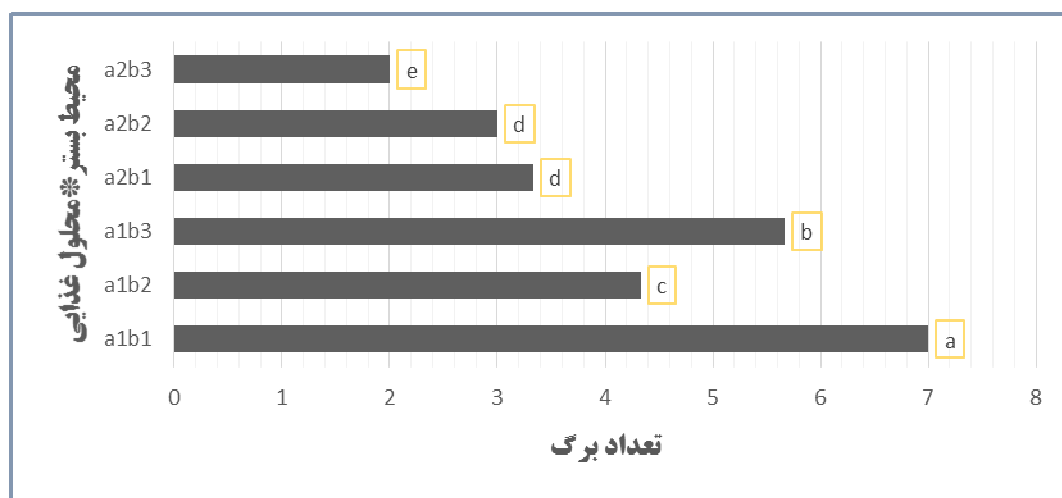
نتایج تجزیه واریانس جدول ۲ نشان داد که محلول هوگلند، ترکیب بسترها و اثر متقابل آن‌ها بر شاخص تعداد برگ اندازه‌گیری شده، در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. بررسی اثرات ساده مقایسه میانگین‌ها، بیانگر بیشترین تعداد برگ با میانگین ۵/۶۷ عدد در تیمار a1 استفاده از محلول هوگلند در محیط بستر است که با تیمار بدون استفاده از محیط هوگلند (a2)، تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد (شکل ۱۴).



شکل ۱۴. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر تعداد ریشه



شکل ۱۵. مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های بستر بر تعداد برگ



شکل ۱۶. مقایسه میانگین تأثیر نوع محیط بستر و محلول غذایی بر تعداد برگ

## نتیجه‌گیری

بستر در مقاوم‌سازی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده چای، تیمار a1b1 بهترین نتایج را نشان داده و به نظر می‌رسد بهترین محیط در مقاوم‌سازی گیاهچه‌های ریشه‌دار شده چای می‌باشد. pH محیط ریشه‌زایی از اهمیت ویژه‌ای برای رشد گیاه برخوردار است زیرا تعداد زیادی از فرآیندها (به‌عنوان مثال در دسترس بودن مواد مغذی و میزان جذب آن، در دسترس بودن گونه‌های یون سمی، ساختار خاک) با این پارامتر ارتباط نزدیکی دارند. احتمالاً محلول هوگلند به‌واسطه داشتن مواد غذایی مناسب و کافی به همراه pH تنظیم‌شده سبب افزایش رشد نهال نسبت شرایط بدون محلول هوگلند می‌شود. همچنین بستر، خاک+پیت+ورمی‌کولیت+ماسه (a1b1) به دلیل داشتن ترکیب خاک سبب کنترل فراهمی عناصر غذایی می‌شود و همراهی ورمیکولیت و ماسه شرایط پوکی کافی برای گسترش ریشه را فراهم می‌آورد و از سوی دیگر وجود پیت به حفظ رطوبت بستر کمک کرده و شرایط را برای رشد و مقاوم‌سازی نهال فراهم می‌آورد.

به‌طور کلی نتایج حاصل از این پروژه نشان داد تیمارهایی که محلول هوگلند دریافت کردند نسبت به تیمارهایی که فاقد محلول هوگلند بودند نتایج بهتری در تمامی شاخص‌های اندازه‌گیری شده نشان دادند. از نظر صفت تعداد ریشه، تیمار a1b1 با ۷/۳ بیشترین تعداد ریشه و تیمار شماره a2b3 با ۴/۳ کمترین مقدار از لحاظ تعداد ریشه را نشان داد. از نظر طول ریشه تیمار a1b1 با ۲/۰۱ سانتی‌متر بلندترین طول ریشه و تیمار a2b3 با ۰/۲۳ سانتی‌متر کوتاه‌ترین طول ریشه را نشان داد. در صفت تعداد شاخساره تیمار a1b1 با ۴/۰۰ بیشترین تعداد شاخساره و تیمار a2b3 با ۱/۰۰ کمترین تعداد شاخساره را نشان داد. در صفت طول شاخساره تیمار a1b1 با ۷/۶۰ سانتی‌متر بلندترین طول شاخساره و تیمار a2b3 با ۲/۳۳ سانتی‌متر کوتاه‌ترین طول شاخساره را نشان داد. در صفت تعداد برگ تیمار a1b1 با ۷/۰۰ بیشترین تعداد برگ و تیمار a2b3 با ۲/۰۰ کمترین تعداد برگ را نشان داد. در مجموع می‌توان گفت در تمامی پنج شاخص اندازه‌گیری شده برای تعیین بهترین محیط

## فهرست منابع

- ترنگ، علیرضا و کیابی، شادی و یوسف پور لزرجانی، الهام و رضانی صیاد، علی. (۱۳۹۱). بررسی ابعاد ریز از دیداری و کشت بافت گیاه چای (*Camellia sinensis*)، اولین همایش ملی دانشجویی بیوتکنولوژی، گرگان.
- ضیائی‌ان، عبدالحسین. (۱۳۸۲). استفاده از عناصر کم‌مصرف در کشاورزی. معاونت آموزش و تجهیز نیروی انسانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، وزارت کشاورزی. کرج.
- ملکوتی، محمدجعفر و محمدمهدی تهرانی. (۱۳۸۴). نقش ریزمغذی‌ها در افزایش عملکرد و بهبود کیفیت محصولات کشاورزی. انتشارات دانشگاه تربیت مدرس، تهران.
- Agarwal, B., Singh, U., & Banerjee, M. (1992). *In vitro* Clonal Propagation of Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 30(1): 1-5.
- Britto, D. T., & Kronzucker, H. J. (2002). NH<sub>4</sub><sup>+</sup> toxicity in higher plants: a critical review. *Journal of plant physiology*, 159(6): 567-584.
- Brix, H., Dyhr-Jensen, K., & Lorenzen, B. (2002). Root-zone acidity and nitrogen source affects *Typha latifolia* L. growth and uptake kinetics of ammonium and nitrate. *Journal of Experimental Botany*, 53(379): 2441-2450.
- Gerendás, J., Zhu, Z., Bendixen, R., Ratcliffe, R. G., & Sattelmacher, B. (1997). Physiological and biochemical processes related to ammonium toxicity in higher plants. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, 160(2): 239-251.
- Haldman, J. h., & Thomas, R. L. (1989). Multiple Shoot Production from Single Buds of Tea. *Camellia Journal*. 44(2): 23-26.
- Hoagland, D.R., Arnon, D.I. 1950. The water culture method for growing plant without soil, California Agricultural Experiment Station: Circular, 347.
- Ishigaki K. (1974). Comparison between ammonium-nitrogen and nitrate-nitrogen on the effect of tea plant growth, *Japanese Agricultural Research Quaternary*, 8: 101-105.

- Kronzucker, H. J., Siddiqi, M. Y., & Glass, A. D. (1997). Conifer root discrimination against soil nitrate and the ecology of forest succession. *Nature*, 385(6611), 59-61.
- Ma LF, Shi YZ, Ruan JY.(2000) Soil pHs in the tea gardens in Jiangsu, Zhejiang, and Anhui provinces and changes of soil pH in the past decade. *Chinese Journal of Soil Science*, 31: 205-207.
- Marschner, H. (1995). Mineral nutrition of higher plants 2nd edition. Academic, Great Britain.
- Mondal, T. K. (2004). Biotechnological Improvements of Tea. *ISB News Report, access entire News Report at <http://www.isb.vt.edu>*.
- Mondal, T. K. (2003). Micropropagation of Tea (*Camellia sinensis*). In: S. M. Jain & K. Ishii (eds.). *Micropropagation of Woody Trees and Fruits* (pp. 671–720). Netherlands: Kluwer Academic.
- Morita, A., Ohta, M., & Yoneyama, T. (1998). Uptake, transport and assimilation of <sup>15</sup>N-nitrate and <sup>15</sup>N-ammonium in tea (*Camellia sinensis* L.) plants. *Soil Science and Plant Nutrition*, 44(4): 647-654.
- Nakamura, Y. (1991). *In vitro* Propagation Techniques of Tea Plants. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 25: 185-194.
- Nakamura, Y. (1987a). *In vitro* Rapid Plantlet Culture from Axillary Buds of Tea Plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze). *Bulletin of the Shizuoka Tea Experiment Station*. 13: 23-27.
- Sarathchandra, T. M., Upali, P. D., & Arulpragapam, P. V. (1990). Progress Towards the Commercial Propagation of Tea by Tissue Culture Techniques. *Sri Lanka journal of tea science*. 59(2): 62-64.
- Sarathchandra, T. M., Upali, P. D., & Wijewardena, R. G. A. (1988). Studies on the Tissue Culture of Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) 4.Somatic Embryogenesis in Stem and Leaf Callus Cultures. *Sri Lanka journal of tea science*.52(2):50-54
- Schmidt, E. L., & Stevenson, F. J. (1982). Nitrogen in agricultural soils. *Agronomy Monographs*, 22, 253-288.
- Tahardi, J., Raisawati, T., Riyadi, I., & Dodd, W. (2000). Direct Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in Tea by Temporary Liquid Immersion. *Menara Perkebunan*. 68(1): 1-9.
- Vessey, J. K., Henry, L. T., Chaillou, S., & Raper Jr, C. D. (1990). Root-zone acidity affects relative uptake of nitrate and ammonium from mixed nitrogen sources. *Journal of Plant Nutrition*, 13(1): 95-116.
- Zenginbal, H., Haznedar, A., & Dolgun, O. (2014). Effects of Indole-3-Butyric Acid (IBA) and. *American Journal of Experimental Agriculture*, 4 (12): 1935-1943.