

بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی چهار نوع کنار (*Ziziphus spp.*) در کشت

درون شیشه‌ای

سکینه جوکاری* و محمد هدایت

بوشهر، دانشگاه خلیج فارس بوشهر، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، گروه علوم باغبانی

تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۴

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۷



چکیده

کنار یکی از درختان مناطق گرم بوده که ضمن استفاده خوراکی از میوه آن با داشتن خصوصیات دارویی در صنایع دارویی و آرایشی کاربرد فراوانی دارد. این پژوهش جهت مقایسه و بدست آوردن بهترین روش باززایی درون شیشه‌ای چهار نوع کنار شامل دو رقم کنار بنگالی (*Ziziphus mauritania*) با میوه بیضی درشت و رقم بی‌هسته (فاقد درون‌بر خشبی) و دو رقم کنار ایرانی (*Z. spina christi*) گرد و بی‌هسته با میوه‌هایی کوچک صورت گرفت. این تحقیق در قالب طرح فاکتوریل در بلوک کاملا تصادفی به اجرا در آمد. ریزنمونه‌های جوانه جانبی پس از گندزدایی سطحی، در محیط کشت MS به همراه تنظیم کننده‌های رشد BA و 2ip به همراه IAA در غلظت‌های مختلف جهت پرآوری کشت شدند. پس از ۸ هفته تعداد پرآوری شاخساره‌ها شمارش و ثبت شد. نتایج تاثیر تنظیم کننده‌های رشد مشخص نمود بیشترین پرآوری در محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BA و 2ip به همراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA به دست آمد. در بین انواع کنار، رقم بی‌هسته با میانگین ۲/۹۳ عدد شاخساره بیشترین پرآوری را نشان داد. مقایسه اثر متقابل تنظیم کننده‌های رشد و نوع کنار نشان داد در محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA بیشترین میزان شاخساره به تعداد ۴ عدد در کنار بنگالی بی‌هسته بدست آمد. در مرحله ریشه‌زایی محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین تیمار ریشه‌زایی برای کنار بنگالی بی‌هسته شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: تنظیم کننده‌های رشد، کشت درون شیشه‌ای، کنار بنگالی، کنار ایرانی

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۳۵۳۵۱۲۲۳۴، پست الکترونیکی: lidajokari@yahoo.com

مقدمه

استفاده می‌شود. تنوع گسترده ویژگی‌های دارویی عصاره کنار عبارتند از خواص ضد تورمی، ضد باکتریایی، التیام بیماری‌های پوستی، درمان پر اداری، تب و بی خوابی را ذکر کرد (۹). کنار به طور مستقیم از نظر تولید چوب، میوه، خوراک دام و محصولات دارویی و به طور غیر مستقیم به دلیل حفاظت آب و خاک، ایجاد تعادل در اکوسیستم و افزایش پوشش سبزداری اهمیت اقتصادی فراوانی است. درخت کنار گستردگی زیادی به صورت وحشی در ۱۳ استان جنوبی کشور دارد و در اغلب این مناطق سازگاری خوبی نیز دارد (۳). مهمترین خصوصیت دارویی درخت

توجه و برنامه‌ریزی‌های دولت، مبنی بر توسعه سطح زیر کشت درختان گرمسیری و نیمه گرمسیری، باعث مورد توجه قرار گرفتن کنار به عنوان یک درخت گرمسیری شده است و کشت و توسعه آن در مناطق جنوبی کشور در برنامه‌های اصلی وزارت جهاد کشاورزی قرار گرفته است (۲). کنار درختی همیشه سبز در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری از جنس *Ziziphus* و تیره Rhamnaceae می‌باشد. در طب سنتی گونه‌های مختلفی از این جنس برای مصارف دارویی در سراسر جهان کاربرد دارند (۱۲). تقریباً همه قسمت‌های گیاه *Ziziphus* برای اهداف دارویی

کنار خاصیت شویندگی برگ‌های آن است. برگ‌های خشک شده این درخت جهت شست و شوی بدن و مو بکار می‌رود. برگ کنار (سدر) حاوی تانن، استروئول‌های گیاهی، گلوکزید و ساپونین می‌باشد. عامل کف‌کنندگی در برگ کنار ساپونین موجود در آن است. با توجه به اهمیت این گیاه دارویی در تولید ترکیبات مؤثره و متابولیت‌های ثانویه مورد نیاز این صنایع و همچنین روی کرد مورد نیاز برای استفاده از داروهای گیاهی به جای داروهای شیمیایی، لزوم تحقیق بیشتر در مورد جنبه‌های مختلف تکثیر این گیاه ارزشمند، احساس می‌شود (۳).

روش‌های افزایش کنار شامل بذر، قلمه، پیوند و تکثیر درون شیشه‌ای است. افزایش از طریق بذر یکی از معمول‌ترین روش‌های تکثیر در کنار است، ولی به دلیل تفرق صفات و تنوع ژنتیکی و همچنین عدم زیوایی ۵۰ تا ۷۰ درصدی بذر، در کاشت تجاری مورد استفاده قرار نمی‌گیرد (۳). تنها هدف از کاشت بذر به منظور تهیه پایه برای انجام پیوند است. عملیات جابجایی نهال‌ها به طور معمول مشکل می‌باشد. برای اجتناب از این عملیات توصیه می‌شود بذرهایی که به عنوان پایه مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طور مستقیم در زمین اصلی کاشت شوند و پس از رویدن، آن‌ها را پیوند نمود. برای ازدیاد رویشی کنار می‌توان از روش‌های قلمه زدن و پیوند استفاده کرد (۳). ازدیاد کنار توسط پیوند علاوه بر محدود بودن به فصول خاصی از سال، نیازمند زمانی طولانی و مهارت فردی ویژه است. همچنین اثر منفی پایه بر پیوندک و ناسازگاری پایه و پیوندک از موانع دیگر این روش محسوب می‌شود (۴). ازدیاد از طریق قلمه نیز به دلیل درصد ریشه‌زایی کم قلمه‌ها، به ندرت مورد استفاده قرار می‌گیرد. در صورتی که با استفاده از روش ریزافزایی می‌توان گیاهانی یکنواخت، سالم و بدون محدودیت زمانی تولید نمود. با توجه به محدودیت‌های فوق، استفاده از شیوه‌های نوین ریز ازدیادی به منظور افزایش انبوه کنار از نظر اقتصادی قابل توجیه است (۴). کشت بافت این گیاه

موجب شده است که گزارشی از باززایی گیاهچه به واسطه پینه (باززایی غیر مستقیم) وجود نداشته باشد. بهینه‌سازی فرایند کشت بافت و باززایی کنار با واسطه‌گری کشت پینه، راه‌گشای انجام تحقیقات بنیادی و کاربردی در زمینه‌های مختلفی نظیر اصلاح گیاه از طریق تنوع سوماکلونال خواهد بود که خود نیز به عنوان زمینه‌ساز کشت بافت درختان، نسبت به گیاهان علفی، کمتر توسعه یافته است و این تفاوت به دلیل مشکل بودن ریزازدیادی گیاهان چند ساله در مقایسه با گیاهان علفی است که تحت تاثیر عوامل زیادی قرار می‌گیرد. مقالات اندکی در خصوص ریز ازدیادی این گونه ارائه شده است. در این راستا اندام زایی مستقیم از ریزنمونه‌های بالغ در گونه‌های وحشی آن متداول‌ترین روش باززایی آن است (۸). مشکلات مختلفی از جمله، محدودیت‌های ناشی از دخالت ترکیبات فنلی در مراحل انجام پروژهای مرتبط با دستورزی در سطوح عالی تر مهندسی ژنتیک همچون تراریختی و مهندسی مسیرهای بیوسنتز انواع متابولیت‌ها، مورد توجه قرار خواهد گرفت. در این ارتباط پژوهش‌های انجام شده بدین شرح است (۵). طبق تحقیقات انجام شده توسط چیترا و آناندر کومار (۲۰۰۶) تکثیر گونه کنار، از طریق کشت بافت در شرایط درون شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه‌های مختلف صورت گرفته است.

در پژوهش‌های عصاره و سرد آبی (۲۰۰۵) انواع مختلف ریزنمونه کنار ایرانی (*Ziziphus spina-christi* L.) شامل جوانه انتهایی، جوانه جانبی، برگ و دمبرگ را بمنظور بررسی عوامل مؤثر بر باززایی ریزنمونه‌ها و تشکیل پینه در آزمایش‌های مختلف درون شیشه‌ای مورد آزمایش قرار دادند که بهترین نتایج بمنظور باززایی، از جوانه انتهایی به دست آمد. در بررسی که توسط ماتور و همکاران (۱۹۹۳) روی افزایش انبوه کنار رملیک با استفاده از ریزنمونه‌های گره لپه، هیپوکتیل و جوانه انتهایی صورت گرفت، بیشترین تعداد شاخساره از ریزنمونه‌های جوانه انتهایی به دست آمد. راتور و همکاران (۱۹۹۲) نشان دادند استفاده از محیط

کیتین (kin) و ۱ میلی‌گرم در لیتر تیدیاژورن از همه بیشتر بود. میزان ریشه‌زایی توسط هورمون IBA در همه غلظت‌ها نسبت به هورمون NAA بیشتر است. در آزمایش که توسط ابراهیم و همکاران (۲۰۱۴) بر روی ریز ازدیادی کناربنگالی رقم زیتونی از طریق کشت جوانه انتهایی صورت گرفت بیشتریت تعداد شاخساره در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بدست آمد. عباس (۲۰۱۰) طی آزمایشی که روی کشت درون شیشه‌ای کنار هندی انجام داد به این نتیجه رسید که، سریع‌ترین شروع رشد و باززایی در محیط کشت MS و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر کیتین به دست آمد.

بنابراین با توجه به پژوهش‌های انجام شده، هدف این پژوهش بررسی تاثیر غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی بر پرآوری دو رقم از دوگونه متفاوت کنار جهت دست‌یابی به باززایی سریع گیاه خواهد بود.

مواد و روشها

مواد گیاهی مورد استفاده در این آزمایش از درختان کنار واقع در باغ مادری دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه خلیج فارس جدا و به آزمایشگاه کشت بافت، منتقل گردید. در این پژوهش از سرشاخه‌های جوان کنار با ۵ تا ۷ گره استفاده شد. در این خصوص دو هفته قبل از برداشت، درخت‌ها با مقداری کود ازت جهت افزایش رشد، و سم‌پاشی با بنومیل ۰/۲ درصد جهت کاهش آلودگی تیمار شدند. سرشاخه‌های جوان دو رقم مختلف از دو گونه کنار ایرانی (*Ziziphus spina-christi* L.) و کنار بنگالی (*Z. mauritania*) برای تهیه ریزنمونه‌ها استفاده گردید. رقم‌ها شامل گونه کنار ایرانی رقم گرد با میوه معمولی گرد کوچک و رقم بی‌هسته با میوه کوچک بدون پوسته (فاقد درون بر خشبی) چوبی و دو رقم کنار بنگالی با میوه بیضی درشت و رقم بی‌هسته فاقد درون بر خشبی و درشت مورد استفاده قرار گرفتند (نگاره ۱). این اکوتیپ‌ها در منطقه نام‌گذاری شده اند. از آنجایی که میوه کنار شفت

کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) همراه با تنظیم‌کننده‌های رشد اسید ایندول استیک (IAA) و بنزیل آدنین (BA) موجب پرآوری در کنار رملیک شدند. در پژوهش آل سلیمان و همکاران (۲۰۱۰) به منظور افزایش درون شیشه-ای کنار ایرانی (*Ziziphus spina-christi* L.) نشان دادند بهترین نتیجه افزایش در محیط کشت MS با ۰/۰۱ میلی-گرم در لیتر اسید نفتالین استیک (NAA) به همراه ۰/۱ میلی-گرم در لیتر IAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA با یک میلی-گرم در لیتر کیتین به دست آورد. سودهرسان و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نمودند ریزنمونه‌های جوانه جانبی کنار ایرانی در محیط کشت MS با افزایش میزان گلوتامین، میواینوزیتول و میزان کمی از تنظیم‌کننده رشد BA قادر به پرآوری شاخساره هستند. پیراسته و همکاران (۱۳۹۱) روی کنار بنگالی نشان دادند که تنظیم‌کننده رشد کیتینی نسبت به BA جهت پرآوری واکنش بهتری داشت. هم‌چنین در بخش ریشه‌زایی محیط کشت غلظت‌های بالای اسید ایندول بوتریک (IBA) بهترین ترکیب تشخیص داده شد. سودهرسان و حسین (۲۰۰۳) نیز به منظور ریشه‌زایی کنار ایرانی با استفاده از شاخساره‌های ۴ تا ۶ سانتی‌متری در محیط کشت MS حاوی ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA، تنها توانستند در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA سر آغازهای ریشه (*Root Primordium*) مشاهده گردید. در تحقیقی که توسط ژانگ و جیو (۲۰۰۵) بر روی ریزنمونه برگ گونه *Z. jujuba* صورت گرفت به این نتیجه رسیدند که تیدیاژورن در غلظت‌های کم تاثیر زیادی در پرآوری شاخه دارد. در پژوهشی که توسط احمدی و همکاران (۱۳۹۴) بر پینه‌زایی و باززایی گونه کنار (*Z. spina-christi* L.) در ریزنمونه‌های مختلف گره، ریشه و برگ انجام داد. نتایج نشان داد که مقدار پینه‌زایی برای ریزنمونه برگ نسبت به دو ریزنمونه دیگر، در محیط کشت حاوی توفوردی (2,4-D) با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از همه بیشتر می‌باشد. در صورتی که میزان باززایی پینه با منشاء گره تحت تاثیر تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر

۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. محیط کشت تهیه شده جهت پرآوری شامل محیط کشت MS همراه با تنظیم کننده‌های رشد BA و ۲- ایزوپنتیل آدنین (2ip) با غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر همراه IAA به غلظت ۰/۰۳ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر تهیه شدند. پس از یک دوره ۸ هفته‌ای به‌مراه یک بار زیرکشت، ارزیابی مربوطه شامل تعداد شاخساره‌های بیش از ۳ میلی‌متر صورت گرفت. این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۸ تیمار تنظیم کننده رشد و ۴ نوع گیاه در ۴ تکرار، که هر تکرار شامل ۳ ریزنمونه در هر ظرف شیشه‌ای، اجرا گردید. تجزیه آماری پس از اندازه‌گیری صفت مورد نظر و جمع‌آوری داده‌ها با نرم افزار (SAS 9.1) انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن توسط نرم افزار MSTAT-C صورت پذیرفت.

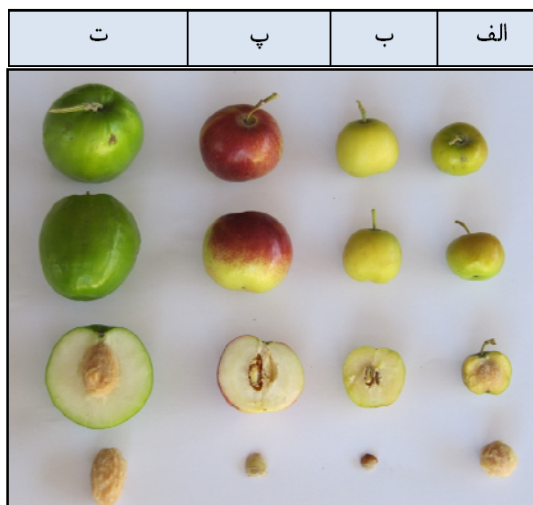
بمنظور ریشه‌زایی، تعدادی از شاخساره‌های بدست آمده از رقم کنار بنگالی با میوه بیضی درشت به دلیل بهترین نتیجه در پرآوری، به محیط کشت ریشه‌زایی حاوی چهار سطح ۰، ۵، ۱۰ و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر IBA قرار گرفتند. طرح آماری این آزمایش نیز در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار و چهار تکرار انجام شد. پس از یک دوره ۴ هفته‌ای، ارزیابی مربوط به شمارش تعداد ریشه‌های تشکیل شده بلندتر از ۳ میلی‌متر در هر نمونه انجام شد.

برای بررسی سازگاری، ابتدا گیاهان ریشه‌دار شده را با آب مقطر ولرم شست و شو داده، سپس به گلدان درپوش-دارحاوی بستر کشت استریل شده با ترکیب مساوی از پرلایت و کوکوپیت انتقال داده شد. درپوش پلاستیکی آن جهت حفظ رطوبت، بر روی گلدان قرار گرفت و به تدریج پوشش برداشته تا سازگاری گیاهچه با هوای آزاد تسریع گردد.

نتایج و بحث

پرآوری جوانه جانبی: ارزیابی پرآوری شاخساره‌ها در

(Drupe (or Stone Fruit)) بوده و دارای درون‌بری (Endocarp) سخت و خشبی می‌باشد، اما رقم‌های بی‌هسته کنار فاقد درون‌بری چوبی و خشبی بوده و تنها پوسته‌ای بسیار نازکی روی بذر قرار گرفته است (شکل ۱).



شکل ۱- میوه و بذرقم‌های دو گونه کنار شامل: الف) رقم گرد کنار ایرانی، ب) رقم بی‌هسته کنار ایرانی، پ) رقم بی‌هسته کنار بنگالی و ت) میوه بیضی درشت کنار بنگالی

پس از انتقال سرشاخه‌ها به آزمایشگاه، جهت بر طرفی آلودگی‌های سطحی، توسط محلول آب و چند قطره مایع ظرف‌شویی به مدت ۱۵ دقیقه شست و شو و زیر آب روان به مدت یک ساعت قرار گرفتند. جهت گندزدایی نهایی، شاخساره‌های حاوی ۳-۴ جوانه جانبی را در زیر دستگاه جریان هوای لامینار، نخست درون ظرف اتانول ۷۵ درصد به مدت ۳۰ ثانیه و سپس در محلول ۱۵ درصد هیپوکلریت سدیم تجاری، به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور گردیدند. در نهایت پس از سه بار آب‌شویی با آب مقطر استریل و حذف قسمت‌های نامناسب، ریزنمونه‌ها شامل یک گره به طول تقریبی یک سانتی‌متر از گره دوم تا چهارم سرشاخه‌های جوان تهیه و در شیشه‌های حاوی محیط کشت پرآوری از قبل تهیه شده، قرار گرفتند. ظروف پس از برچسپ‌گذاری و نوشتن اطلاعات لازم، در اتاق رشد، در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای

می‌دهد نوع کنار، ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد محیط کشت و اثر متقابل این دو عامل آزمایشی بر میزان پرآوری شاخساره‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس پرآوری چهار نوع کنار شامل دو رقم کنار بنگالی با میوه بیضی درشت و بی هسته درشت و دو رقم کنار ایرانی با میوه معمولی گرد و بی هسته ریز در محیط کشت حاوی غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات پرآوری
تنظیم‌کننده‌ها (A)	۷	۱۱/۱۴ **
نوع کنار (B)	۳	۸/۷۸ **
(A*B)	۲۱	۲/۳۵ **
خطا	۹۶	۰/۴۲
کل	۱۲۷	

** عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۱٪ را نشان می‌دهد

کاهش چیرگی انتهایی و طولی شدن شاخساره‌ها، سبب افزایش تعداد شاخساره می‌شود (۱۰، ۲۲ و ۳۰). در پژوهشی که توسط ابراهیم و همکاران (۲۰۱۲) روی باززایی کنار هندی (*Z. mauritiana Lamk*) رقم Zaytoni از طریق اندام زایی غیر مستقیم انجام شد. بیشترین تعداد شاخساره در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمد.

میزان اکسین نسبت به سابتوکینین نقش خیلی مهمی در اندام‌زایی مستقیم و غیر مستقیم در شرایط درون شیشه ای دارد (۳۱). به نظر می‌رسد تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینینی از جمله BA تاثیر بیشتری در هدایت و تکثیر یاخته‌ها جهت باززایی داشته باشد. در این ارتباط پژوهش‌های ذکر شده به دلیل استفاده از تنظیم‌کننده رشد BA با این پژوهش در یک راستا قرار دارند.

میانگین تاثیر نوع کنارها بر پرآوری نشان داد کنار ایرانی بی هسته ریز با میانگین ۲/۹۳ تعداد شاخساره بیشترین پرآوری را بدست آورد که با رقم‌های دیگر کنار از نظر آماری در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۲).

محیط‌کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف BA و 2ip به همراه IAA پس از گذشت ۸ هفته، با شمارش تعداد شاخساره‌های بلندتر از ۳ میلی‌متر مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج تجزیه واریانس باززایی مستقیم شاخساره‌ها نشان

جدول ۱- تجزیه واریانس پرآوری چهار نوع کنار شامل دو رقم کنار بنگالی با میوه بیضی درشت و بی هسته درشت و دو رقم کنار ایرانی با میوه معمولی

گرد و بی هسته ریز در محیط کشت حاوی غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد.

بررسی نتایج تاثیر تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری نشان داد بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت‌های حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA بدست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار ۶ میلی‌گرم در لیتر 2ip به همراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA در سطح ۵ درصد مشاهده نشد، اما با سایر تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۲). از آنجایی که بیشترین غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد، بهترین نتیجه را دادند، به نظر می‌رسد تنظیم‌کننده‌های رشد شرایط مناسبی جهت تحریک و تسریع تقسیم یاخته‌ای برای حصول پرآوری در جوانه‌ی جانبی ایجاد نموده است. در پژوهشی که توسط راتور و همکاران (۱۹۹۲) روی کنار رملیک و کنار هندی انجام دادند، مشاهده شد بهترین نتایج در ارتباط با پرآوری کنار رملیک در محیط کشت MS با غلظت ۵ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر IAA به دست آمد. هم‌چنین در کنار هندی کاربرد محیط کشت ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۷/۵ میلی‌گرم در لیتر BA باعث افزایش پرآوری شاخساره‌ها شد. افزایش پرآوری در این پژوهش با توجه به نوع تنظیم‌کننده‌های رشد بکار رفته دلیل هم‌سویی با تحقیق حاضر داشت. هم‌چنین برخی از پژوهش‌ها نشان می‌دهند که BA با

جدول ۲- مقایسه میانگین‌پرآوری چهار نوع کنار (دو رقم کنار بنگالی با میوه بیضی درشت و بی هسته درشت و دو رقم کنار ایرانی با میوه معمولی گرد و بی هسته ریز) و غلظت‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد.

میانگین	تعداد شاخساره				تنظیم‌کننده‌های رشد	
	کنار ایرانی بی هسته ریز	کنار ایرانی معمولی گرد	کنار بنگالی بی هسته درشت	کنار بنگالی بیضی درشت	IAA(mg/l)	
۲/۱۲ bc	۳/۰۰ abc	۱/۵۰de	۲/۰۰ cde	۲/۰۰cde	۰/۰۱	۴
۲/۳۷ b	۳/۵۰ab	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde	۰/۰۳	
۱/۸۷ c	۲/۵۰ bcd	۳/۰۰ abc	۱/۰۰ de	۱/۰۰de	۰/۰۱	۶
۳/۰۰ a	۳/۵۰ ab	۲/۵۰ bcd	۳/۵۰ ab	۲/۵۰ bcd	۰/۰۳	
۱/۳۷ d	۳/۵۰ab	۰f	۲/۰۰ cd	۰ f	۰/۰۱	۴
۲/۵۰ b	۲/۰۰ cde	۲/۵۰ bcd	۳/۵۰ ab	۲/۰۰ cde	۰/۰۳	
۱/۰۰ d	۲/۰۰ cde	۰f	۲/۰۰ cde	۰f	۰/۰۱	۶
۳/۱۲ a	۳/۵۰ab	۲/۵۰ bcd	۴/۰۰ a	۲/۵۰ bcd	۰/۰۳	
	۲/۹۳a	۱/۷۵c	۲/۵۰b	۱/۵۰c	میانگین	

میانگین‌های با حروف مشترک از لحاظ آماری و براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند.

در کنار ایرانی معمولی گرد و بسیار از تیمارهای تنظیم‌کننده رشد بکار رفته بر روی کنار ایرانی بی هسته ریز از نظر آماری تفاوت معنی‌داری نداشت، اما با سایر تیمارها، اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول ۲). تیمارهای اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع کنارها که فاقد توانایی پرآوری بودند شامل کنار بنگالی با میوه بیضی درشت و کنار ایرانی معمولی گرد در محیط کشت‌های حاوی ۴ و ۶ میلی‌گرم در لیتر BA به‌مراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IAA بدست آمد (جدول ۲). به نظر می‌رسد نسبت بالای سایتوکینین به اکسین عامل اصلی تقسیم یاخته‌ای، تشکیل شاخساره و پرآوری شاخساره جانبی باشد. هم‌چنین شواهد نشان می‌دهد افزایش غلظت‌های بکار رفته تنظیم‌کننده‌های رشد موجب افزایش باززایی در انواع کنارها داشته است. به گونه‌ای که میزان پرآوری در تمامی رقم‌ها، با کاربرد تنظیم‌کننده‌های رشد نسبت مستقیم داشت. اگر چه واکنش رقم‌ها می‌تواند حاکی از نقش مؤثر ژنوتیپ در چگونگی پاسخ باشد (۱۷، ۲۳ و ۲۵). با در نظر گرفتن نقش شناخته شده اکسین‌ها و سایتوکینین‌ها در رشد و تقسیم سلولی و نتایج بی‌شمار کاربرد تیمارهای

به نظر می‌رسد مقایسه میزان پرآوری نشان از تفاوت ظرفیت پرآوری شاخساره‌ها در بین گونه و رقم‌های مختلف کنار دارد. این تفاوت در ظرفیت باززایی ریزنمونه‌های مختلف، امری طبیعی محسوب می‌شود به گونه‌ای که این صفت وابستگی زیادی به ژنوتیپ گیاه دارد (۱۷، ۲۳ و ۲۵). بنابر این نتایج حاکی از آن است که صفت اندازه‌گیری شده تحت تاثیر نوع کنار قرار گرفته، بدین معنی که کنارهای متفاوت واکنش‌های متفاوتی در ایجاد تعداد شاخساره در محیط کشت داشته‌اند. می‌توان گفت دلیل آن، نیازهای متفاوت هر گیاه به غلظت یا تنظیم‌کننده‌های رشد متفاوت است.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم‌کننده‌های رشد و نوع کنارها مشخص گردید بیشترین میزان پرآوری با میانگین ۴ شاخساره در کنار بنگالی بی هسته درشت در محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BA به‌مراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA حاصل شد که با محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر 2ip به‌مراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA در کنار بنگالی بی هسته درشت، محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر 2ip به‌مراه ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IAA

یاخته‌ها جهت تولید ریشه‌ها به طور موفق عمل نماید. جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد ریشه‌های تشکیل شده کنار بنگالی بی هسته درشت در غلظت‌های متفاوت تنظیم کننده رشد IBA.

تعداد ریشه	IBA(mg/l)
۱/۲۵c	۰
۱/۷۵c	۵
۳/۲۵b	۷/۵
۴/۲۵a	۱۰

میانگین‌های با حروف مشترک از لحاظ آماری و براساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر دارای تفاوت معنی دار نیستند.



شکل ۲- مراحل ریشه‌زایی شاخساره کنار بنگالی رقم بی هسته درشت، الف) شاخساره پرآوری شده، ب) تقسیم شاخساره، پ) ریشه دار شدن پس از گذشت ۴ هفته و ت) آماده‌سازی جهت کشت در گلدان.

نتایج حاصل از پژوهش‌های انجام شده توسط سودهرسان و همکاران (۲۰۰۱) بر روی گیاه کنار ایرانی نشان دادند که گیاهک‌های یک ماهه با ۳ تا ۴ گره ساقه، در محیط کشت ریشه‌زایی حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین تعداد ریشه را تولید کردند. هم‌چنین مطالعات ریشه‌زایی که توسط عصاره و سردابی (۲۰۰۵) بر روی گیاه کنار ایرانی انجام گرفت نشان داد که محیط کشت‌های حاوی تنظیم کننده رشد اکسینی IBA، ریشه‌زایی موفق بدست آمد. سودهرسان و حسین (۲۰۰۳) طی تحقیقاتی به منظور ریشه‌زایی کنار ایرانی، از شاخساره‌هایی به طول ۴ تا ۶ سانتی متر در محیط کشت MS حاوی ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر IBA استفاده شد. نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که تنها در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر

تنظیم کننده‌های رشد که از طریق تاثیر گذاری بر غلظت هورمون‌های درونی نقش خود را ایفا می‌کنند (۱۴، ۱۲ و ۱۳)، می‌توان چنین اظهار نظر کرد که هر ژنوتیپ دارای مقادیر خاصی از هورمون‌های درونی بوده به عبارتی سطح درونی آن‌ها در بین گیاهان مختلف متفاوت است (۱۴) و (۱۲). بنابراین پاسخ گونه‌های گیاهی به غلظت تیمار تنظیم کننده‌های رشد به کار گرفته شده، بستگی به میزان سطح هورمون‌های داخلی گیاه دارد.

ریشه زایی: در این قسمت کنار بنگالی بی هسته درشت که بیشترین پرآوری را داشته به محیط حاوی غلظت‌های متفاوت تنظیم کننده رشد جهت ریشه‌زایی منتقل شد. نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس ریشه‌زایی کنار بنگالی بی هسته درشت نشان می‌دهد که اثر تنظیم کننده‌های رشد محیط کشت بر میزان ریشه‌زایی در سطح یک درصد معنی دار شد (جدول ۳).

جدول ۳- تجزیه واریانس تعداد ریشه کنار بنگالی بی هسته درشت در محیط کشت با غلظت‌های متفاوت تنظیم کننده رشد IBA.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات ریشه‌زایی
تنظیم کننده‌های رشد (A)	۳	۷/۵۸**
خطا	۱۲	۰/۴۲
کل	۱۵	

** عدم اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ را نشان می‌دهد

نتایج به دست آمده در این بخش از پژوهش نشان داد بهترین نتایج مرتبط با ریشه‌زایی با استفاده از محیط کشت‌های حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA با میانگین تعداد ریشه ۴/۲۵ به دست آمد. که از لحاظ آماری با سایر محیط‌های کشت ریشه‌زایی در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی داری داشت. با افزایش میزان تنظیم کننده رشد IBA تا غلظت ۱۰ میلی‌گرم در لیتر تعداد ریشه‌های ایجاد شده از شاخساره‌ها نیز افزایش یافت (جدول ۴). ریشه‌زایی شاخساره‌ها در کشت‌های درون شیشه‌ای یک پیش شرط اساسی برای استقرار آن‌ها در خاک است. به نظر می‌رسد غلظت مناسب IBA توانسته در تحریک

سازگاری: همه گیاهان ریشه‌دار شده پس از انتقال به محیط سازگاری حاوی پرلایت و کوکوپیت به میزان برابر، پس از گذشت سه هفته سازگاری خوبی با محیط نشان داده و گیاهان شروع به رشد نمودند.



شکل ۳- گیاهک منتقل شده به محیط سازگاری پس از گذشت سه هفته.

IBA سرآغازهای ریشه مشاهده شد. پژوهش‌های نامبرده با پژوهش حاضر هم‌سویی کامل دارد. ماتور و همکاران (۱۹۹۳) طی تحقیقاتی روی کنار رملیک نشان دادند شاخساره‌های باززایی شده پس از پیش تیمار در محیط کشت مایع وایت حاوی ۸ میلی‌گرم در لیتر IBA، به محیط کشت نیمه جامد وایت که فاقد تنظیم‌کننده‌های رشد بودند، منتقل شدند. در نتیجه ۸۰ تا ۹۰ درصد از شاخساره‌های کنار رملیک ریشه دار شدند. این پژوهش با پژوهش حاضر از لحاظ نوع تنظیم‌کننده رشد اکسینی موثر بر ریشه‌زایی مطابقت داشت. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که وجود تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی جهت تسریع ریشه‌زایی مورد نیاز است. به عبارتی تنظیم‌کننده‌های رشد اکسینی به دنبال بر طرف نمودن کمبود هورمون-اکسین ریشه‌زایی درونی عمل می‌کنند.

منابع

- ۱- احمدی، ا.، حسینی نصر، س.م. و. جلیلودن، ح. (۱۳۹۴). بررسی اثر تنظیم‌کننده‌های رشد و انواع ریزنمونه بر پینه زایی و باززایی گونه کنار *Ziziphus spina christi* (L.) Willd. فناوری زیستی در کشاورزی. ۳۹-۵۰: ۱۴(۱).
- ۲- پیوندی، م.، فرحزادی، ه. ن. اربابیان، ص. و حسینی مزینانی، م. (۱۳۸۹). تاثیر نوع محیط کشت بر رویان زایی بدنی زیتون رقم کرونا یکی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۹۳-۱۰۱: ۱۸(۱).
- ۳- عصاره، م. ح. (۱۳۸۷). ویژگی‌های زیستی درختان کنار در ایران و معرفی سایر گونه‌های جنس *Ziziphus* موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور. ۵۷۱ ص.
- ۴- عصاره، م. ح. (۱۳۷۹). ازدیاد غیر جنسی درخت کنار *Ziziphus spina-christi* Wild به طریق کشت سلول و بافت و تکثیر به روش‌های معمول و تعیین بهترین روش با توجه به جنبه‌های اقتصادی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی. ۱۵-۲۳: ۹.
- 5- Ahmad, N., Faisal, M., Anis, M. and Aref, I. F. 2010. In vitro callus induction and plant regeneration from leaf explants of *Ruta graveolens* L. South African Journal Botany, 76: 597-600.
- 6- Abass, H. 2010. Rapid *in vitro* multiplication and *ex vitro* rooting of *Ziziphus mauritiana*. Journal of Applied Sciences Research. 6(1):63-69.
- 7- Assareh, M.H., and Sardabi, H. (2005). Macropropagation and micropropagation of *Ziziphus spina-christi*. Pesq. Agropec. Bras. 40(5): 459-465.
- 8- Assareh, M.H. (2009). Biological characteristics of trees along in Iran and introduction of other species *Ziziphus*. Research Institute of Forests and Rangelands, publisher, Tehran, 571 p.
- 9- Bressan, P.H., Kim, Y.J. Hyndman, S.E. Hasegawa, P.M. Bressan, R.A. (1982). Factors affecting in vitro propagation of rose. J. Am. Soc. Hort. Sci. 107, 979-990.
- 10- Carelli, B. P., and Echeverrigary, S. (2002). An improved system for the *in vitro* propagation of rose cultivars. Scientia Horticulturae, 92:64-74.
- 11- Chitra, S. and Anander Kumar, C. R. (2006). Plant regeneration from scutellum-derived callus of Assam rice collection (*Oryza sativa* L.). Madras Agriculture Journal, 93: 73-75.
- 12- Dong J.Z., Dunstan, N. 2002. Molecular biology of somatic embryogenesis in conifers. In: Jan SM, Minocha SC, (eds). Molecular biology of woody plants. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; pp: 51-87.

- 13- Gaspar, T., Kevers, C. Penel, C. Greppin, H. Reid, D. M. and Thorpe, T. A. (1996). Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 32: 272-289.
- 14- Gaspar, T., Kevers, C. Faivre-Rampant, O. Crevecoeur, M. Penel, C. Greppin, H. Dommès, J. (2003). Changing concepts in plant hormone action. *In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant.* 39:85-106
- 15- George, E. F. (2008). *Plant Propagation by Tissue Culture 3rd Edition*, (eds.), Springer. 175-281.
- 16- Gu, X.F. and Zhang, J.R. (2005). An efficient adventitious shoot regeneration system for Zhanhua winter jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.) using leaf explants. *Plant Cell Reports*, 23: 775-779.
- 17- Hasegawa, P.M. (1980). Factors affecting shoot and root initiation from cultured rose shoot tips. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 105: 216-220.
- 18- Horn, W.A.H. (1992). Micropropagation of rose. In: Bajaj, Y.P.S. (Ed.), *Biotechnology in Agriculture and Forestry*, vol. 4. Springer, Germany, pp. 320-324.
- 19- Ibrahim, M.A., Jasim, A.M. and Abbas, M.F. (2014). Micropropagation of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) CV. Zaytoni through shoot tip culture. *Advances in agriculture and Botany*, Vol 6, P 11.
- 20- Ibrahim, M.A., Jasim, A.M. and Abbas, M.F. (2013). *In vitro* Plant regeneration of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* Lamk.) CV. Zaytoni. Via indirect organogenesis, *Acta agriculturae Slovenica*, 65-67.
- 21- Mathur, N.K., Ramawat, G. and Sonie, K.C. (1993). *In vitro* propagation of *Ziziphus nummularia*. *Annals of Aride Zone*. 32(4): 219-222
- 22- Nordstrom, A., Tarkowski, P. Tarkowska, D. Norbaek, R. and Astot, C. (2004). Auxin regulation of cytokinin biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*: a factor of potential importance for auxin-cytokinin-regulated development. *Proc Natl Acad Sci USA*. 101: 8039-8044.
- 23- Owen, H. R., and Miller, A. R. (1996). Haploid plant regeneration from anther cultures of three north American cultivars of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch). *Plant Cell Reports*, 15:905-909.
- 24- Pati, P. K., Rath, S. P. Sharma, M. Sood, A. and Ahuja, P.S. (2005). *In vitro* propagation of rosea reew. *Biotechnology Advances*. 39:85-105.
- 25- Pati, P. K., Rath, S. P. Sharma, M. and Ahuja, P.S. (2005). Micropropagation, protoplast culture and its implications in the improvement of scented rose. *Acta. Hort.* 547: 147-158.
- 26- Pola, S.R., and Saradam, M.N. (2006). Somatic embryogenesis and plantlet regeneration in *Sorghum bicolor* (L.) Moench, from leaf segments. *J. Cell. Mol. Biol.* 5: 99-107.
- 27- Rathore, T.S., Singh, R.P. Dora, N.S. and Shekhawat, N.S. (1992). Clonal propagation of *Ziziphus* species through tissue culture. *Scientia Horticultur.*, 51: 165-168.
- 28- Sudhersan, c., AboEL-Nil, M. and Hussain, j. (2001). *In vitro* propagation of *Ziziphus nummularia* cultivar Umran by shoot tip and nodal multiplication. *Current Science*. 80(2): 290-292.
- 29- Sudhersan, C., and Hussain, J. (2003). *In vitro* clonal propagation of a multipurpose tree, *Ziziphus spina-christi* (L.) Turkish journal Botany. 27: 167-171.
- 30- Yamamoto, M., and Yamamoto, K. T. (1998). Differential effects of 1-naphthaleneacetic acid, indole-3-acetic acid and 2,4-dichlorophenoxyacetic acid on the gravitropic response of roots in an auxin-resistant mutant of *Arabidopsis*, *aux1*. *Plant Cell Physiol.* 39: 660-664.
- 31- Zhang, J. R. and Gu, X. F. (2005). An efficient adventitious shoot regeneration system for Zhanhua winter jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.) using leaf explants. *Plant Cell Reports*, 23:775-779.

Effect of growth regulators on proliferation of ber (*Ziziphus spp.*) in vitro culture

Jokari S. and Hedayat M.

Horticulture Dept., Faculty of Agriculture and Natural Resources, Persian Gulf University, Bushehr, I.R. of Iran

Abstract

Ber (*Ziziphus spp.*) is one of the trees that live in hot areas with having medicinal properties, it is widely used in pharmaceuticals and cosmetics in addition to eating use of its fruit. This study compared and obtained the best regeneration protocol, that was conducted to enhance in vitro culture as four species ber, include two figure of Bengali ber (*Ziziphus mauritania*) with large oval fruit and seedless varieties (without within the wooden) and also two species of Iranian ber (*Ziziphus spina christi*) round and seedless and with small fruit. Carried this study perfectly by chance selected in format of factorial design axillary bud explants after surface disinfection in medium of Murashik and Skoog (MS) performed according to purpose of the experiment had 3% sucrose and 8 g/L agar, with growth regulators of benzyl adenine (BA), indole acetic acid (IAA) and 2ip in variety treatments were cultivated for proliferation. After eight weeks number of proliferation branches was recorded. Results revealed the effect of growth regulators the most proliferation in medium containing was obtained 6mg/l BA and 2ip along with 3 mg/l IAA. In between Ber types, seedless variety with an average shoots number 2.93 showed the greatest proliferation. The comparison results of interaction average growth regulators BA, 2ip and IAA and type of species showed that in medium contains 6 mg/L BA attendant 0.03 mg/L IAA has been obtained maximum amount of the fine branches with 4 in seedless Bengali. The best treatment for rooting in medium containing 10mg/l IBA well known for the Bengali seedless Ber in the rooting stage.

Key words: Growth regulators, in Vitro culture, Bengali ber, Iranian Ber.