بررسی اثر تنظیم کننده‌های رشد بر باززایی چهار نوع کنار (*Ziziphus spp.*) درکشت درون شیشه‌ای

سکینه جوکاری* و محمد هدایت

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

تاریخ دریافت: ۹۴/۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۲۴

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 بهمراه 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 لیترBA و 2ip به همراه ۰/۰۳میلی‌گرم در لیترIAA به دست آمد. در بین انواع کنار، رقم بی‌هسته با میانگین ۲/۹۳ عددشاخساره بیشترین پرآوری را نشان داد. مقایسه اثر متقابل تنظیم کننده‌های رشد و نوع کنار نشان داد در محیط کشت حاوی ۶ میلی‌گرم درلیترBA به همراه۰/۰۳میلی‌گرم درلیترIAA بیشترین میزان شاخساره به تعداد ۴ عدد در کنار بنگالی بی‌هسته بدست آمد. در مرحله ریشه‌زایی محیط کشت حاوی ۱۰میلی‌گرم در لیترIBA بهترین تیمار ریشه‌زایی برای کنار بنگالی بی هسته شناخته شد.

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

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

مقدمه

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 توسعه‌ی 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 می باشد. در طب سنتی گونه‌های مختلفی از این جنس برای مصارف دارویی در سراسر جهان کاربرد دارند(۱۲). تقریبا همه قسمت‌های گیاه *Ziziphus* برای اهداف دارویی استفاده می‌شود.تنوع گسترده ویژگی‌های دارویی عصاره کنار عبارتند از خواص ضد تورمی، ضد باکتریایی،التیام بیماری‌های پوستی، درمان پر ادراری، 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 سبزدارای 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

کنار خاصیت شویندگی برگ‌های آن است. برگ‌های خشک شده این درخت جهت شست و شوی بدن و مو بکارمی‌رود. برگ کنار (سدر) حاوی تانن، استرول‌های گیاهی، گلوکزید و ساپونین می‌باشد. عامل کف کنندگی 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 می شود(۳).

روش های افزایش کنار شامل بذر، قلمه، پیوند و تکثیر درون شیشه‌ای است. افزایش از طریق بذر یکی ازمعمول ترین روش های تکثیر در کنار است، ولی به دلیل تفرق صفات و تنوع ژنتیکی و همچنین عدم زیوایی ۵۰ تا ۷۰ درصدی بذرها، در کاشت تجاری مورداستفاده قرار نمی گیرد(۳). تنهاهدف از کاشت بذر به منظور تهیه پایه برای انجام پیوند است. عملیات جابجایی نهال‌هابه طورمعمول مشکل می باشد. برای اجتناب از این عملیات توصیه میشود بذرهایی که به عنوان پایه مورد استفاده قرار می‌گیرند، به طور مستقیم درزمین اصلی کاشت شوند و پس از رویدن، آن‌ها را پیوند نمود. برای ازدیاد رویشی کنار می توان از روش های 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 می شود(۴). ازدیاد از طریق قلمه نیز به دلیل درصد ریشه‌زایی کم قلمه‌ها، به ندرت مورد استفاده قرار می گیرد. در صورتی که با استفاده از روش ریزافزایی می توان گیاهانی یکنواخت، سالم و بدون محدودیت زمانی تولید نمود. با توجه به محدودیت‌های فوق، استفاده از شیوه‌های نوین ریز ازدیادی به‌منظور 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. بهینه سازی فرایند کشت بافت و باززایی کنار با واسطه گری کشت پینه، راه گشای انجام تحقیقات بنیادی و کاربردی در زمینه‌های مختلفی نظیر اصلاح گیاه از طریق تنوع سوماکلونال خواهد بود که خود نیز به عنوان زمینه ساز 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 می گیرد. مقالات اندکی در خصوص ریز ازدیادی این گونه ارائه شده است. در این راستا اندام زایی مستقیم از ریزنمونه‌های بالغ در گونه‌های وحشی آن متداول ترین 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 موردآزمایش 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

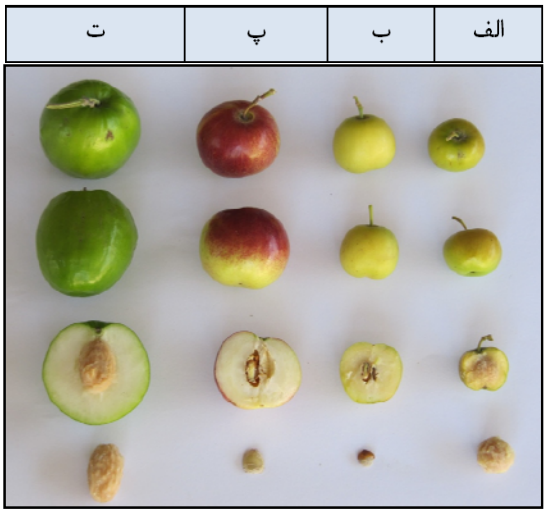
کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) همراه با تنظیم کننده‌های رشد اسید ایندول استیک (IAA) و بنزیل آدنین (BA) موجب پرآوری در کنار رملیک شدند. در پژوهش آل سلیمان و همکاران (۲۰۱۰) به منظور افزایش درون شیشه-ای کنار ایرانی(*Ziziphus spina-christi* L.)نشان دادند بهترین نتیجه افزایش در محیط کشت MS با ۰/۰۱ میلی-گرم در لیتر اسید نفتالین استیک (NAA) بهمراه ۰/۱ میلی-گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA با یک میلی-گرم در لیتر کینتین به دست آورد. سودهرسان و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نمودندریزنمونه‌های جوانه جانبی کنار ایرانی در محیط کشتMS با افزایش میزان گلوتامین، میواینوزیتول و میزان کمی از تنظیم کننده رشد BA قادر به پرآوری شاخساره هستند. پیراسته و همکاران (۱۳۹۱) روی کنار بنگالی نشان دادند که تنظیم کننده رشدکینتینی 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 بااستفاده از شاخساره های ۴ تا ۶ سانتی‌متری در محیط کشت MS حاوی ۰/۱، ۱۰ و ۱۰۰ میلی‌گرم در لیترIBA، تنها توانستند در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA سر آغازه‌های 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 تیدیازورن درغلظت‌های کم تاثیر زیادی در پراوری شاخه دارد.در پژوهشی که توسط احمدی و همکاران(۱۳۹۴) بر پینه‌زایی و باززایی گونه کنار (*Z. spina-christi* L.) در ریزنمونه های 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 ۵/. میلی‌گرم در لیتر از همه بیشتر می باشد. در صورتی که میزان باززایی پینه با منشاء گره تحت تاثیر تیمارهای ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین(kin) و۱ میلی‌گرم در لیتر تیدیازورن از همه بیشتر بود. میزان ریشه‌زایی توسط هورمونIBA 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 لیترBA بدست آمد. عباس (۲۰۱۰) طی آزمایشی که روی کشت درون شیشه‌ای کنار هندی انجام داد به این نتیجه رسید که، سریع ترین شروع رشد و باززایی در محیط کشت MS و ۰/۵ میلی‌گرم در لیترBA, ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳/۵ میلی‌گرم در لیتر کینتین به دست آمد.

بنابراین با توجه به پژوهش‌های انجام شده، هدف این پژوهش بررسی تاثیر غلظت تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر پرآوری دو رقم از دوگونه متفاوت کنار جهت دست یابی 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 (نگاره۱). این اکوتیپ‌ها در منطقه نام‌گذاری شده اند. از آن‌جایی که میوه کنار شفت

((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 بذررقم های 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 هیپوکلریت‌سدیم تجاری، به مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور گردیدند. در نهایت پس از سه بار آب‌شویی باآب مقطر استریل و حذف قسمت‌های نامناسب، ریزنمونه‌ها شامل یک گره به طول تقریبی یک سانتی‌متر از گره دوم تا چهارم سرشاخه‌های جوان تهیه ودر شیشه‌های حاوی محیط کشت پرآوری از قبل تهیه شده، قرار گرفتند. ظروف پس از برچسپ گذاری و نوشتن اطلاعات لازم، دراتاق رشد، در شرایط ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. محیط کشت تهیه شده جهت پرآوری شامل محیط کشتMS همراه با تنظیم کننده‌های رشد BA و۲- ایزوپنتیل آدنین(2ip)با غلظت ۴و۶ میلی‌گرم در لیتر بهمراه IAA به غلظت ۰/۰۱ و ۰/۰۳ 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 کاملا 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 اندازه گیری صفت مورد نظر و جمع آوری داده‌ها با نرم افزار(9.1) SAS انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای جدید دانکن توسط نرم افزارMSTAT-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، ۱۰و ۱۵ میلی‌گرم در لیتر IBA قرار گرفتند. طرح آماری این آزمایش نیز در قالب طرح کاملا 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

محیط‌کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف BA و 2ip به همراهIAA پس از گذشت ۸ هفته، با شمارش تعداد شاخساره‌های بلندتر از ۳میلی‌متر مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس باززایی مستقیم شاخساره‌ها نشان می‌دهد نوع کنار، ترکیب تنظیم کننده‌های رشد محیط کشت و اثر متقابل این دو عامل آزمایشی بر میزان پرآوری شاخساره‌ها در سطح یک درصد معنی‌دار شدند (جدول۱).

جدول۱-تجزیه واریانس پرآوری چهار نوع کنارشامل 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 غلظت های متفاوت تنظیم کننده‌های رشد.

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

** عدم اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ را نشان می دهد

بررسی نتایج تاثیر تنظیم کننده‌های رشد بر پرآوری نشان داد بیشترین تعداد شاخساره در محیط کشت‌های حاوی ۶ میلی‌گرم در لیتر BA بهمراه۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA بدست آمد که از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار ۶ میلی‌گرم در لیتر 2ip بهمراه ۰/۰۳ میلی‌گرم در لیتر IAA در سطح ۵ درصد مشاهده نشد، اما با سایر تیمار تنظیم کننده‌های رشد تفاوت معنی‌داری داشت (جدول۲). از آن‌جایی که بیشترین غلظت تنظیم کننده‌های رشد، بهترین نتیجه را دادند، به نظر می رسد تنظیم کننده‌های 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 بهمراه 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 تنظیم کننده‌های رشد بکار رفته دلیل هم‌سویی با تحقیق حاضر داشت. هم‌چنین برخی از پژوهش‌ها نشان می دهندکه BA با کاهش چیرگی انتهایی و طویل شدن شاخساره‌ها، سبب افزایش تعداد شاخساره می‌شود(۱۰، ۲۲و ۳۰) .در پژوهشی که توسط ابراهیم و همکاران(۲۰۱۲) روی باززایی کنارهندی (Z. mauritiana Lamk) رقم Zaytoni از طریق اندام زایی غیر مستقیم انجام شد. بیشترین تعداد شاخساره در محیط MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BA و ۱ میلی گرم در لیتر NAA بدست آمد.

میزان اکسین نسبت به سایتوکنین نقش خیلی مهمی در اندام زایی مستقیم و غیر مستقیم در شرایط درون شیشه ای دارد(۳۱). به نظر می‌رسد تنظیم کننده‌های 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 تنظیم کننده 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 (جدول۲).

جدول۲- 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 غلظت های متفاوت تنظیم کنندههای رشد.

تنظیم کنندههای رشد			تعداد شاخساره				
		IAA(mg/l)	کنار بنگالی بیضی درشت	کنار بنگالی بی هسته درشت	کنار ایرانی معمولی گرد	کنار ایرانی بی هسته ریز	میانگین
2ip (mg/l)	۴	۰/۰۱	۲/۰۰cde	۲/۰۰ cde	۱/۵۰de	۳/۰۰ abc	۲/۱۲ bc
		۰/۰۳	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde	۲/۰۰ cde	۳/۵۰ab	۲/۳۷ b
	۶	۰/۰۱	۱/۰۰de	۱/۰۰ de	۳/۰۰ abc	۲/۵۰ bcd	۱/۸۷ c
		۰/۰۳	۲/۵۰ bcd	۳/۵۰ ab	۲/۵۰ bcd	۳/۵۰ ab	۳/۰۰ a
BA (mg/l)	۴	۰/۰۱	۰ f	۲/۰۰ cd	۰f	۳/۵۰ab	۱/۳۷ d
		۰/۰۳	۲/۰۰ cde	۳/۵۰ ab	۲/۵۰ bcd	۲/۰۰ cde	۲/۵۰ b
	۶	۰/۰۱	۰f	۲/۰۰ cde	۰f	۲/۰۰ cde	۱/۰۰ d
		۰/۰۳	۲/۵۰ bcd	۴/۰۰ a	۲/۵۰ bcd	۳/۵۰ab	۳/۱۲ a
میانگین			۱/۵۰c	۲/۵۰b	۱/۷۵c	۲/۹۳a	

میانگین های با حروف مشترک از لحاظ آماری و براساس آزمون چند دامنه ای دانکن درسطح احتمال ۵ درصد با یکدیگر تفاوت معنیداری ندارند.

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 ریزنمونه-های 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 اندازه گیری 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 تنظیم کنندههای رشد متفاوت است.

نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل تنظیم کنندههای 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 میلی گرم در لیتر IAA حاصل شدکه با محیط کشت حاوی ۶ میلیگرم در لیتر 2ip بهمراه ۰/۰۳ میلی گرم در لیتر IAA در کنار بنگالی بی هسته درشت، محیط کشت حاوی ۶ میلیگرم در لیتر 2ip بهمراه ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر IAA در کنار ایرانی معمولی گرد و بسیار از تیمارهای تنظیم کننده رشد بکار رفته بر روی کنار ایرانی بی هسته ریز از نظر آماری تفاوت معنیداری نداشت، اما با سایر تیمارها، اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد نشان داد (جدول۲). تیمارهای اثر متقابل تنظیم کنندههای 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 میلی گرم در لیتر IAA بدست آمد (جدول۲). به نظر می رسد نسبت بالای سایتوکینین به اکسین عامل اصلی تقسیم یاختهای، تشکیل شاخساره و پرآوری شاخساره جانبی باشد. همچنین شواهد نشان میدهد افزایش غلظتهای بکار رفته تنظیم کنندههای رشد موجب افزایش باززایی در انواع کنارها داشته است. به گونهای که میزان پرآوری در تمامی رقمها، با کاربرد تنظیم کنندههای رشد نسبت مستقیم داشت. اگر چه واکنش رقمها می تواند حاکی از نقش مؤثر ژنوتیپ در چگونگی پاسخ باشد (۱۷، ۲۳ و ۲۵). با در نظر گرفتن نقش شناخته شده اکسین ها و سایتوکنین ها در رشد و تقسیم سلولی و نتایج بی شمار کاربرد تیمارهای

تنظیم کننده‌های رشد که از طریق تاثیر گذاری بر غلظت هورمون‌های درونی نقش خود را ایفا می کنند(۱۴، ۱۲ و ۱۳)، می توان چنین اظهار نظر کرد که هر ژنوتیپ دارای مقادیر خاصی از هورمون های 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 غلظت های متفاوت تنظیم کننده رشد جهت ریشه زایی منتقل شد.نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس ریشه زایی کنار بنگالی بی هسته درشت نشان می دهد که اثر تنظیم کننده‌های رشد محیط کشت بر میزان ریشه زایی در سطح یک درصد معنی دار شد(جدول ۳).

جدول۳- تجزیه واریانس تعداد ریشه کنار بنگالی بی هسته درشت در محیط کشت با غلظت های متفاوت تنظیم کننده رشدIBA.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات ریشه زایی
تنظیم کننده‌هایرشد (A)	۳	۷/۵۸**
خطا	۱۲	۰/۴۲
کل	۱۵	

** عدم اختلاف معنی دار در سطح ۱٪ را نشان می دهد

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

جدول۴- مقایسه میانگین تعداد ریشه‌های تشکیل شده کنار بنگالی بی هسته درشت در غلظت های متفاوت تنظیم کننده‌رشد IBA.

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

میانگین های با حروفم شترک از لحاظ آماری و براساس آزمون چند دامنه ای دانکن درسطح احتمال۵ درصد با یکدیگر دارای تفاوت معنی دارنیستند.

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 ریشه زایی 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 موفقی 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 میلی‌گرمدر لیتر IBA استفاده شد .نتایج پژوهش آن‌ها نشان داد که تنها در محیط کشت حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر

IBA سرآغازه‌های 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 تنظیم کننده‌های 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 تنظیم کننده رشد اکسینی موثر برریشه‌زایی مطابقت داشت. این پژوهش‌ها نشان می‌دهد که وجود تنظیم کننده‌های رشد اکسینی جهت تسریع ریشه‌زایی مورد نیاز است. به عبارتی تنظیم کننده-های رشد اکسینی به دنبال بر طرف نمودن کمبودهورمون-اکسین ریشه‌زایی درونی عمل می کنند.

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.

منابع

۱- احمدی، ا.، حسینی نصر، س.م .و جلیلوند،ح.(۱۳۹۴).بررسی اثرتنظیم کننده های رشدوانواع ریزنمونه برپینه زایی وباززایی گونه کنار.*Ziziphus spina christti* (L.) Willd فناوری زیستی درکشاورزی. ۵۰-۳۹ : (۱)۱۴.

۲- پیوندی، م.،فرحزادی، ه. ن. اربابیان،ص. و حسینی مزینانی، م.(۱۳۸۹).تاثیر نوع محیط کشت بر رویان زایی بدنی زیتون رقم کرونایکی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران. ۱۰۱-۹۳ : (۱)۱۸.

۳- عصاره، م. ح. (۱۳۸۷). ویژگی های زیستی درختان کنار در ایران و معرفی سایر گونه های جنس *Ziziphus*. موسسه تحقیقات جنگل ها 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 روش های معمول و تعیین بهترین روش با توجه به جنبه های اقتصادی. تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی. ۱۵-۲۳ :۹

5- 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- Assare, 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 Agricallture 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. Dordecht: Klawer Acadenic 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. Cre`vecoeur, M. Penel, C. Greppin, H. Dommes, 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 Botanics, 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 reiew. 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. Hortic. 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 Horticaltur., 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 nodel 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 ofgrowth regulatorsonproliferationberfour(*Ziziphus spp.*)Invitro 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 to 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 ovalfruitand seedless varieties(without within the wooden)and also two species of Iranian ber (*Ziziphus spina christi*)round and seedlessand 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 Sgock (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 asid (IAA) and 2ip in variety treatments were cultivate 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.