مجله علمی-پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات
جلد ۱۳، شماره ٤، زمستان ۱۳۹٦، صفحات ۱۱-۱

ISSN NO: 2008-8485

بهینه‌سازی ریزازدیادی عناب (*Ziziphus jujuba*) رقم Tian-yuzao

Optimization of micropropagation of jujube (*Ziziphus jujuba* cv. Tian-yuzao)

سیده سارا موسوی[۱]، سید مهدی میری[۱*]، پژمان مرادی[۲]

تاریخ دریافت: ۱۳۹٦/۰۳/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹٦/۰٦/۲۰

چکیده

به‌منظور مطالعه تاثیر محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری و ریشه‌زایی عناب رقم Tian-yuzao، این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. جهت پرآوری از محیط‌های پایه کشت MS و WPM با سطوح ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین (BA) و برای ریشه‌زایی نیز از محیط‌های کشت نام‌برده حاوی ایندول بوتریک اسید (IBA) در چهار سطح ۰، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد. بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس، تفاوت معنی‌داری بین دو محیط کشت MS و WPM برای صفات پرآوری و ریشه زایی مشاهده نشد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین درصد شاخه‌زایی (۷٦-۷۳ درصد) و تعداد شاخساره (۳/۱-۳ عدد) در محیط‌های کشت حاوی ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آدنین بدست آمد، اما بیش‌ترین طول شاخساره (۷٤ میلی‌متر)، وزن تر (۲۹٦ میلی‌گرم) و وزن خشک (٤٤ میلی‌گرم) در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد. درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و میانگین طول ریشه‌های تمامی محیط‌های حاوی ایندول بوتریک اسید با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند اما نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشتند. نتایج سازگاری نشان داد که ۸۷/۲ درصد گیاهچه‌ها در بستر رس: پیت: پرلیت (۱:۱:۱) زنده ماندند.

کلمات کلیدی: عناب، پرآوری، ریشه‌زایی، محیط کشت، تنظیم‌کننده رشد.

www.iapb.kiau.ac.ir

۱- گروه باغبانی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
۲- گروه باغبانی، واحد ساوه، دانشگاه آزاد اسلامی، ساوه، ایران
*- مکاتبه کننده E- mail: smmiri@kiau.ac.ir

مجله علمی- پژوهشی زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج

مقدمه

شرایط اقلیمی ایران در اکثر مناطق مرکزی و شرقی، خشک یا نیمه خشک است و گونه‌های بومی و سازگار در این مناطق محدود می باشد، به همین خاطر گیاهان سازگار با این شرایط سخت اهمیت ویژه‌ای دارند. گونه‌های گیاهی موجود در خانواده عنابیان (Rhamnaceae) و جنس *Ziziphus* از زمره همین گیاهان محسوب می‌شوند (عصاره، ۱۳۸۷). عناب (*Z. jujuba*) بومی آسیای جنوب شرقی، آسیای میانه و قفقاز می‌باشد و درختی است مقاوم که می‌تواند در مناطقی که با کمبود آب مواجه هستند و خاک نامناسب دارند، به خوبی رشد کند (مظفریان، ۱۳۸۳). پراکنش عناب در ایران به‌طور عمده در استان خراسان شامل مشهد، کلات نادری، قائن، بیرجند، دره گز و دشت بیاض می‌باشد (خاکدامن و همکاران، ۱۳۸۵).

میوه عناب دارای خواص ضد سرطانی و دارویی مختلف و با اهمیتی می‌باشد (خزائی و همکاران، ۱۳۹۴) و به‌عنوان یک گیاه دارویی در طب سنتی ایران، جایگاه ارزنده‌ای دارد و از اندام‌های مختلف آن نظیر میوه، بذر، برگ، پوست و ریشه در صنایع غذایی و دارویی به‌صورت تازه و خشک استفاده می‌شود. میوه آن به‌عنوان تصفیه کننده خون، آرام کننده اعصاب، مقوی معده، ملین، ضد سرفه و مدر به‌کار می رود (میرحیدر، ۱۳۷۵). میوه تازه عناب حاوی ۷۶/۹ درصد رطوبت، ۱/۶ درصد پروتئین و ۴/۲۰ درصد قند است و معمولاً به‌صورت خشک شده مصرف می‌شود و سرشار از ویتامین‌ها به‌ویژه ویتامین C می‌باشد. رطوبت، قند، پروتئین خام و خاکستر در عناب خشک شده به ترتیب ۲۵/۷، ۶۰، ۴/۹ و ۴/۷ درصد می‌باشد (آذرپژوه و مختاریان، ۱۳۸۴؛ Morton, 1987).

از دیگر کاربردهای درخت عناب می‌توان به احداث و توسعه فضای سبز و باغ‌ها اشاره کرد. با این روش می‌توان کاربرد چندمنظوره داشت و علاوه بر سرسبزی و شاخ و برگ زیبای درخت، از اجزای مختلف درخت برای مقاصد اقتصادی سود جست. چوب آن به‌دلیل داشتن نقش زیبا و صیقل پذیر بودن در صنایع چوب کاربرد دارد (ثابتی، ۱۳۷۳؛ حسین آوا، ۱۳۸۱).

روش‌های مختلفی برای ازدیاد عناب استفاده می‌شود، که از روش‌های متداول می‌توان به پاجوش، بذر و قلمه اشاره کرد (غوث، ۱۳۸۸). به‌دلیل ریشه‌زایی ضعیف قلمه‌ها، معمولاً از تنظیم‌کننده‌های رشد برای ریشه‌زایی استفاده می‌گردد. کاشت بذر معمولاً به‌منظور تهیه پایه استفاده می‌شود؛ دلیل اصلی آن این است که محصول درختان حاصل از بذر، به‌دلیل تفرق صفات، نسبت به والدین از کیفیت پایین تری برخوردارند (وست وود، ۱۳۷۰).

علی‌رغم تمام خصوصیات و مزیت‌های مهم ذکر شده در رابطه با درخت عناب، این درخت در کشور ایران مورد توجه زیادی قرار نگرفته است. شاید دلیل اصلی آن، تکثیر مشکل و هزینه بر بودن آن در سطح انبوه و تجاری باشد. مناسب‌ترین راه جهت تکثیر انبوه و تجاری‌سازی این گیاه با ارزش، بهره‌مندی از روش‌های کشت بافت می‌باشد که امکان تولید گیاهان یکسان از لحاظ ژنتیکی، تکثیر ژنوتیپ منتخب، حفظ و نگهداری یک ژنوتیپ خاص در شرایط درون شیشه‌ای، کوتاه‌تر کردن زمان تکثیر و تولید نهال، تولید گیاهان عاری از بیماری، زمینه‌سازی برای انتقال ژن و بازده اقتصادی بالا را فراهم می کند و می تواند موجب احیای باغات یکنواخت و بهره‌وری اقتصادی بالاتر با استفاده از ژنوتیپ‌های برتر گردد (خزائی و همکاران، ۱۳۹۴).

در زمینه تعیین محیط کشت و تنظیم‌کننده‌ها رشد مناسب و مطلوب جهت کشت درون شیشه‌ای گیاه عناب مطالعات محدودی صورت پذیرفته است. ژو و لیو (Zhou and Liu, 2009) اثر هفت نوع تنظیم‌کننده رشد شامل BA، GA_3، NAA، TDZ، IBA، IAA و Kin را در غلظت‌های مختلف بر باززایی از برگ، ریشه‌زایی و ساقه‌زایی عناب بررسی کردند. بر اساس نتایج حاصل شده TDZ نسبت به BA در ایجاد شاخساره مؤثرتر بود. ریزنمونه‌های برگی ابتدا باید در محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA به مدت ۲۸ روز باقی بمانند و سپس به محیط حاوی ۰/۱ میلی‌گرم IBA و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر GA_3 منتقل شوند. با این روش توانستند به ۹۲/۴۵ درصد باززایی دست یابند. محیط MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر Kin به‌همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA

www.japb.kiau.ac.ir

بهترین محیط برای پرآوری تعیین شد. همچنین ریزنمونه‌ها در محیط ½MS حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA به‌خوبی ریشه‌دار شدند. عباس (Abass, 2010) برای تکثیر و ریشه‌زایی در شرایط درون شیشه‌ای عناب، ریزنمونه‌های نوک ساقه را در محیط‌های کشت WPM و MS در غلظت‌های مختلف (مقدار کامل، ۳/۴، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸) بدون تنظیم‌کننده رشد قرار داد و همچنین اثر محیط کشت B5 را در غلظت‌های مختلف (دو برابر مقدار کامل، مقدار کامل، ۳/۴، ۱/۲، ۱/۴، ۱/۸) در مرحله استقرار بررسی کرد و نتایج نشان داد رشد در مراحل اولیه به سطوح کامل MS بدون تنظیم کننده رشد نیاز دارد. در تحقیقی برای ریزازدیادی سه رقم Comethry، Balahy و Balady عناب از تنظیم‌کننده‌های رشد BA، 2iP و TDZ در سطوح ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر توام با ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA استفاده شد. نتایج نشان داد که برای ارقام Comethry و Balady بهترین محیط برای استقرار، محیط پایه MS به‌همراه ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2iP می‌باشد و برای کولتیوار Balahy، بهترین محیط استقرار، محیط پایه MS با ترکیبات ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر TDZ بدست آمد (Soliman and Hegazi, 2013).

هدف از این تحقیق تعیین شرایط بهینه محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد جهت ریزازدیادی عناب رقم Tian-yuzao از طریق تکنیک کشت بافت بود. به کمک پروتکل حاصله می‌توان به راحتی این گیاه را در کم‌ترین زمان و با صرفه اقتصادی بالا تولید انبوه نمود و زمینه را برای تحقیقات تکمیلی که بر پایه این تکنیک است، اعم از اصلاح از طریق بالا بردن سطوح پلوئیدی و انتقال ژن و افزایش متابولیت‌های ثانویه، هموار کرد.

مواد و روش‌ها

نهال‌های عناب رقم Tian-yuzao که از طریق پاجوش از یک گیاه مادری تکثیر یافته بودند از بیرجند تهیه شد و به گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی- واحد کرج منتقل گردید. در اردیبهشت و خرداد، سرشاخه‌های جوان انتخاب و به قطعات ۱۵-۱۰ سانتی‌متری بریده و زیر آب جاری به مدت سه ساعت قرار گرفتند و سپس در محلول وایتکس ۱۰٪ حاوی چند قطره Tween-20 غوطه‌ور شدند. پس از ضدعفونی با محلول وایتکس، شاخه‌ها ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو و در الکل ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه قرار گرفتند و سپس ۳ مرتبه با آب مقطر استریل شستشو شدند. در مرحله آخر ساقه‌ها به قطعات ۲-۱ سانتی‌متری برش زده شدند و ریزنمونه‌های حاوی حداقل یک جوانه سالم بر روی محیط کشت پایه MS (Murashige and Skoog, 1962) قرار داده شدند. پس از گذشت چند روز نمونه‌های آلوده مشخص و حذف گردیدند.

جوانه ریزنمونه‌های سالم، پس از گذشت ۶ هفته رشد و تولید شاخساره‌های جدید کرده و این شاخساره‌ها به‌عنوان ریزنمونه برای پرآوری مورد استفاده قرار گرفتند. تیمارهای پرآوری شامل محیط‌های پایه MS و WPM (Lloyd and McCown, 1980) حاوی ۳۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و ۰، ۰/۱، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA با pH=۵/۷-۵/۸ بود. شاخساره‌ها پس از کشت به اتاقک رشد با دمای۲ ± ۲۴ درجه سانتیگراد و طول روز ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس انتقال یافتند و درصد پرآوری، میانگین تعداد شاخساره‌ها، میانگین طول شاخساره، وزن تر شاخساره‌ها و وزن خشک شاخساره‌ها پس از گذشت ۶ هفته اندازه‌گیری شد. وزن خشک با قرار دادن شاخساره‌ها در آون (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۸ ساعت بدست آمد. به‌منظور تعیین محیط کشت مناسب ریشه‌زایی، شاخساره‌هایی با طول حدود ۲ سانتی‌متر به محیط ریشه‌زایی شامل MS و WPM حاوی ۲۰ گرم در لیتر ساکارز، ۷ گرم در لیتر آگار و ۰، ۱، ۵ و ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA واکشت شدند. پس از ۲ ماه، درصد ریشه‌زایی، میانگین تعداد ریشه‌ها و میانگین طول ریشه یادداشت‌برداری شد.

گیاهچه‌هایی که دارای ریشه‌های مناسبی بودند و از رشد قابل قبولی برخوردار بودند، برای انتقال به خاک و سازگاری انتخاب شدند. گیاهچه‌های منتخب از محیط کشت خارج و با آب روان شسته شده تا بقایای محیط کشت آگاردار از اطراف ریشه‌ها پاک

www.iapb.ir

شود. برای سازگاری گیاهچه به شرایط برون شیشه، از سه بستر رس: پیت: پرلیت (۱:۱:۱)، رس: پیت: ورمیکولیت: پرلیت (۱:۱:۱:۱) و رس: پرلیت (۱:۱) استفاده شد و ظروف پلاستیکی یک بار مصرف به‌عنوان درپوش روی گلدان‌ها قرار گرفت. شرایط اتاقک رشد برای سازگاری، دمای ۲ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد با رژیم نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و شدت نور ۳۰۰۰ لوکس بود. هفته اول، گیاهچه‌ها هر روز با محلول ماکرو و میکرو MS آبیاری و سپس هر دو هفته یکبار با کود مایع NPK تغذیه انجام شد. پس از گذشت پنج روز، بر روی درپوش سوراخ های کوچکی برای تبادل هوا ایجاد و پس از یک هفته، هوادهی تدریجی گیاهچه‌ها آغاز و درپوش پس از گذشت چهار هفته از تاریخ کاشت، بطور کامل از روی گیاهچه های سازگار شده برداشته شد. پس از ۶۰ روز گیاهان کاملا سازگار شدند و میزان زنده مانی آنها به‌عنوان شاخصی برای بررسی بهترین بستر برای سازگاری استفاده گردید.

مطالعه حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل با دو عامل محیط کشت و BA برای پرآوری و محیط کشت و IBA برای ریشه‌زایی در قالب طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار (هر تکرار ۱۰ ریزنمونه) انجام شد. همچنین آزمایش سازگاری به‌صورت طرح کاملاً تصادفی و در چهار تکرار (هر تکرار ۱۰ گیاهچه) صورت گرفت. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS 8.0 استفاده شد و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (Duncan) در سطح احتمال ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

پرآوری

پس از کشت ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت با ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده رشد BA، شاخه‌زایی صورت پذیرفت. نتایج تجزیه واریانس بیانگر این بود که در تمامی صفات مورد مطالعه اختلاف معنی داری بین دو محیط کشت MS و WPM وجود ندارد (جدول ۱). با توجه به سازگار و کم توقع بودن این گیاه، به نظر می‌رسد این امر در شرایط کشت درون شیشه‌ای هم صادق بوده و واکنش یکنواختی در هر دو محیط کشت برای همه صفات نشان داده است. این در حالی است که در برخی از گونه‌های چوبی مانند پایه گیلاس گیزلا ۵ (Fallahpour *et al.*, 2015) و هیبرید هلو و بادام گارنم (Erfani *et al.*, 2017) پاسخ شاخساره‌ها به محیط کشت‌های مختلف مانند MS، WPM و DKW متفاوت بوده است. در مطالعه حاضر، شاخساره‌ها در هیچ‌کدام از محیط‌های MS و WPM علائم بدشکلی ظاهری و ناهنجاری فیزیولوژیکی شیشه‌ای شدن (Vitrification) را نشان ندادند و هر دو محیط پایه می‌توانند محیط‌های مناسب و ایده‌آلی جهت رشد و تکثیر شاخساره‌های عناب در شرایط درون شیشه‌ای باشند (شکل ۱). تنظیم‌کننده رشد BA اثر معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد بر همه صفات داشت، اما اثرات متقابل محیط کشت و BA بر پرآوری غیرمعنی‌دار بود. لذا با توجه به نتایج، در ادامه به مقایسه میانگین تیمارهای BA بر روی صفات مختلف پرآوری پرداخته خواهد شد.

بر اساس نتایج حاصل از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (جدول ۲) تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف BA بر درصد ریزنمونه‌هایی که تولید شاخساره جانبی کرده‌اند، مشاهده شد. پایین‌ترین درصد پرآوری (۱۳/۱ درصد) را شاهد به خود اختصاص داد و بیش‌ترین آن مربوط به مقادیر ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA (به ترتیب ۷۵/۷ و ۷۳/۰ درصد) بود. این موضوع مؤید این است که BA به‌عنوان یک سیتوکنین توانسته است اثر معنی‌داری در تحریک و القاء شاخه‌زایی در ریزنمونه‌ها داشته باشد. در بررسی که توسط گویال و همکاران (Goyal *et al.*, 2006) روی عناب انجام گردیده، از سه محیط پایه MS، B5، و N6 به همراه مقادیر مختلف هورمون‌های TDZ، BAP و کینتین برای تکثیر استفاده شد. در بین این هورمون‌ها، BAP با مقدار مصرف ۱/۸۷ میلی‌مول در محیط MS و با ۹۳/۷ درصد بهترین نتیجه شاخه‌زایی را حاصل نمود. تعداد شاخساره در هر ریزنمونه، علاوه بر درصد ریزنمونه‌هایی که به پرآوری پاسخ داده‌اند، برای یک پرآوری موفق از اهمیت قابل ملاحظه‌ای برخوردار می‌باشد.

www.japb.kiau.ac.ir

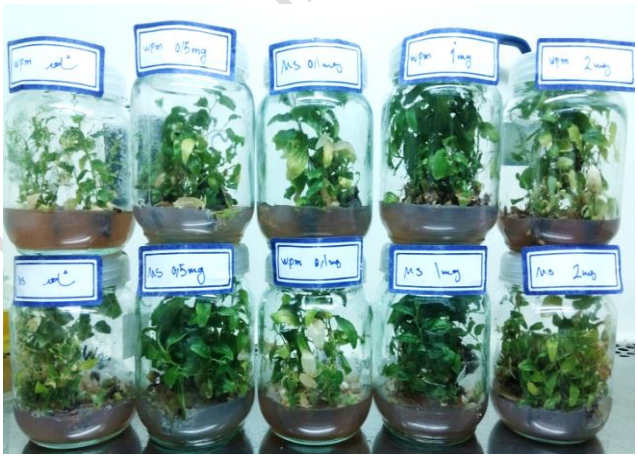
جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس اثرات محیط کشت و BA بر پرآوری عناب

Table 1. ANOVA results of the effect of medium and BA on proliferation of jujube

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square				
		پرآوری Proliferation	تعداد شاخساره No. shoots	میانگین طول شاخساره‌ها Average shoot length	وزن تر شاخساره‌ها Shoot fresh weight	وزن خشک شاخساره‌ها Shoot dry weight
محیط کشت Media	1	18.09^{ns}	0.01^{ns}	4.69^{ns}	60.02^{ns}	8.28^{ns}
BA	4	5034.50**	3.93**	2235.40**	31769.90**	681.80**
محیط کشت × BA Media×BA	4	9.93^{ns}	0.03^{ns}	2.60^{ns}	99.15^{ns}	1.42^{ns}
خطا Error	30	69.60	0.17	26.55	544.41	14.43
درصد ضریب تغییرات CV (%)		15.77	17.10	10.80	10.76	12.26

** و ns: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

ns, **: non-significant, significant at 1% probability level, respectively



شکل ۱- پرآوری عناب در غلظت‌های مختلف BA در دو محیط کشت MS و WPM

Figure 1. Jujube proliferation in different concentrations of BA in both MS and WPM media

با توجه به نتایج مقایسه میانگین مشخص گردید که همانند درصد پاسخ ریزنمونه‌ها به پرآوری (جدول ۲)، تعداد شاخساره در شاهد کم‌ترین مقدار (۱/۴) و سطوح ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر BA دارای بیش‌ترین تأثیر در تولید شاخساره به ترتیب با ۳/۰ و ۳/۱ شاخساره در هر ریزنمونه بودند (جدول ۲). پایین‌ترین طول شاخساره در شاهد و بیش‌ترین رشد شاخساره در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA (۷۴/۲ میلی متر) مشاهده شد (جدول ۲)، که بیانگر تأثیر مثبت BA بر روی رشد طولی شاخساره می‌باشد. با اینحال افزایش غلظت BA به ۲ میلی‌گرم در لیتر تاثیر منفی بر رشد داشته است.

میری و همکاران (۱۳۸۲) نیز نتیجه گرفتند افزایش غلظت BA موجب افزایش تعداد شاخساره پایه‌های M.9 و M.26 سیب و کاهش طول آن‌ها می‌شود. در مطالعه‌ای که حسین و همکاران (Hossain *et al.*, 2003) به‌منظور پرآوری درون شیشه‌ای عناب انجام دادند، تعداد ۶ شاخساره در هر جداکشت در محیط کشت MS به‌همراه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آوردند. آن‌ها همچنین گزارش کردند که بیش‌ترین طول شاخساره نیز در این محیط مشاهده گردیده است.

نتایج مقایسه میانگین وزن تر و خشک شاخساره در جدول ۲ نشان داده شده است. بیش‌ترین وزن تر شاخساره متعلق به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA با وزن ۲۹۶/۲ گرم و پایین‌ترین وزن تر مربوط به شاهد (۱۳۵/۶ گرم) بود. وزن خشک شاخساره نیز پاسخ‌هایی مشابه وزن تر شاخساره داشت و بیش‌ترین وزن خشک شاخساره‌ها مربوط به تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر BA (۴۳/۶ گرم) و کم‌ترین وزن خشک مربوط به شاهد (۱۹/۳ گرم) بود.

ریشه‌زایی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های ریشه‌زایی در جدول ۳ نشان داده شده است. نوع محیط کشت برای تمامی صفات (درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و متوسط طول ریشه) غیرمعنی‌دار شد و بین محیط‌های کشت هیچ‌گونه اختلافی از لحاظ این صفات مشاهده نشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر BA بر پرآوری عناب

Table 2. Mean comparison of the effect BA on proliferation of jujube

BA ($mg.l^{-1}$)	درصد پرآوری Proliferation (%)	تعداد شاخساره No. shoots	میانگین طول شاخساره‌ها Average shoot length (mm)	وزن تر شاخساره‌ها Shoot fresh weight (mg)	وزن خشک شاخساره‌ها Shoot dry weight (mg)
0	13.1 c	1.4 c	31.4 d	135.6 d	19.3 d
0.1	50.3 b	2.1 b	39.2 c	176.7 c	25.5 c
0.5	52.1 b	2.3 b	41.0 c	222.5 b	31.5 b
1	75.7 a	3.0 a	74.2 a	296.2 a	43.6 a
2	73.0 a	3.1 a	53.1 b	253.5 b	34.9 b

اعداد دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Numbers with same letter do not significant difference based on Duncan multiple range test at 1% probability level.

سطوح مختلف IBA تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد بر روی این صفات داشتند. اثرات متقابل بین دو عامل محیط کشت و سطوح IBA نیز غیرمعنی‌دار شد. در برخی منابع از محیط کشت MS ½ به‌عنوان محیط پایه ریشه‌زایی گونه‌های چوبی استفاده شده است (Hossain *et al*., 2003; Miri and Ghaem Maghami, 2011; Shu-Xin and Xiao-Hong, 2007; Zhou and Liu, 2009)، در حالی که نتایج تحقیق حاضر نشان از عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دو نوع محیط پایه کشت MS و WPM در تولید ریشه می‌دهد. مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف تنظیم‌کننده رشد IBA بر صفات درصد ریشه‌زایی، تعداد ریشه و متوسط طول ریشه در جدول ۴ و ریشه‌زایی شاخساره‌ها در غلظت‌های مختلف IBA در شکل ۲ ارائه شده است. بر اساس نتایج بدست آمده، درصد ریشه‌زایی به ترتیب در تیمارهای ۵، ۱۰ و ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA با میانگین‌های ۶۰/۴، ۵۱/۷ و ۴۹/۷ درصد بهترین واکنش‌ها را از خود بروز داد و در یک گروه آماری قرار گرفتند و نسبت به شاهد (۶/۴ درصد) افزایش معنی‌داری داشتند. برای صفات تعداد و طول ریشه نیز اختلاف معنی‌داری بین شاهد و تیمارهای حاوی IBA در سطح احتمال ۱ درصد وجود دارد اما بین تیمارهای مختلف IBA اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در منابع مختلف از اکسین و یا ترکیبات مختلف هورمونی همراه اکسین برای القاء ریشه‌زایی استفاده شده است. فنگ و همکاران (Feng *et al*., 2010) بیان داشتند که ۹۵/۵ درصد ریشه‌زایی روی محیط کشت MS ½ حاوی ۲/۶۹ میکرومول NAA برای شاخه‌های عناب مناسب می‌باشد. همچنین در آزمایش دیگری گویال و همکاران (Goyal *et al*., 2006) با کاربرد NAA به مقدار ۲/۶۹ میلی‌مولار، ۸۰ درصد ریشه‌زایی بدست آوردند.

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثرات محیط کشت و IBA بر ریشه‌زایی عناب

Table 3. ANOVA results of the effects of media and IBA on rooting of jujube

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Mean square		
		درصد ریشه زایی Rooting (%)	تعداد ریشه No. root	متوسط طول ریشه Mean root length
محیط کشت Media	1	18.00^{ns}	0.50^{ns}	0.55^{ns}
IBA	3	4691.90^{**}	21.20^{**}	5.12^{**}
محیط کشت × IBA Media× IBA	3	198.80^{ns}	2.08^{ns}	1.07^{ns}
خطا Error	24	98.30	1.10	0.40
درصد ضریب تغییرات CV (%)		23.60	31.70	28.70

** و ns: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد و غیر معنی‌دار.

ns, **: Non-significant and significant at 1% probability level, respectively

www.japb.kiau.ac.ir

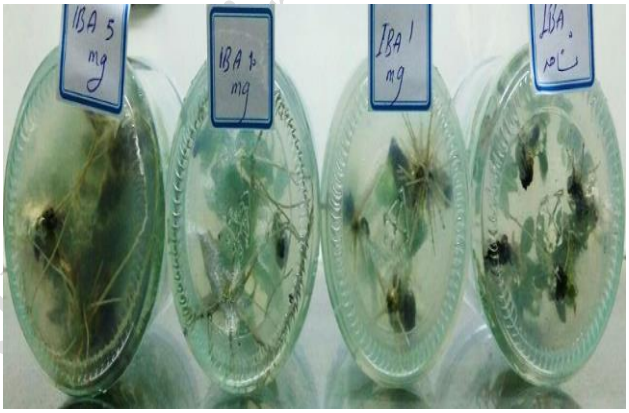
جدول ۴- مقایسه میانگین اثر IBA بر ریشه‌زایی عناب

Table 2. Mean comparison of the effect of IBA on rooting of jujube

IBA ($mg.l^{-1}$)	درصد ریشه‌زایی Rooting (%)	تعداد ریشه No. root	متوسط طول ریشه Mean root length (mm)
0	6.4 b	0.8 b	10.1 b
1	49.7 a	4.2 a	25.5 a
5	60.4 a	4.1 a	25.4 a
10	51.7 a	4.0 a	27.2 a

اعداد دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Numbers with same letter do not significant difference base Duncan multiple range test at 1% probability level.



شکل ۲- ریشه‌زایی شاخساره‌های عناب در غلظت‌های مختلف IBA

Figure 2- Rooting of jujube shoots at different concentrations of IBA

سازگاری

آخرین مرحله و یکی از عوامل اصلی موفقیت در کشت بافت، سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار به شرایط برون شیشه‌ای است. تجزیه داده‌های درصد زنده‌مانی نشان داد که بستر کشت اثر معنی‌داری بر زنده‌مانی گیاهچه‌ها دارد (جدول ۵). مطابق نتایج جدول ۶، بهترین بستر رس: پیت: پرلیت (شکل ۳) و رس: پیت: ورمیکولیت: پرلیت است که میزان زنده‌مانی در آن‌ها به ترتیب ۸۷/۲ و ۷۶/۱ درصد می باشد.

موفقیت یک پروژه ریزازدیادی علاوه بر بهینه کردن شرایط محیط کشت بافت، به سازگاری گیاهچه‌ها به شرایط طبیعی نیز بستگی دارد. استفاده از ترکیبات مختلف بستر کشت نشان داد هر چقدر ترکیب بستر سبکتر باشد، ریشه‌های گیاهچه‌های کشت بافتی بهتر می‌توانند به شرایط طبیعی سازگار شوند. به همین خاطر گیاهچه‌ها در ترکیب رس و پرلیت به‌دلیل نسبت بالای رس نسبت به ترکیبات دیگر (رس: پیت: پرلیت و رس: پیت: ورمیکولیت: پرلیت) از زنده‌مانی کمتری برخوردار بودند.

نتیجه‌گیری کلی

تحقیق حاضر، یک پروتکل بهینه شده برای ریزازدیادی عناب ارائه می‌دهد. نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از محیط‌های کشت MS و WPM هر دو اثر یکسانی به‌عنوان محیط پایه بر پرآوری و ریشه‌زایی شاخساره‌های عناب دارند. کاربرد BA برای رسیدن به بالاترین پرآوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و مقایسه شاهد با بقیه محیط‌های حاوی BA نشان داد که حتی وجود مقدار کمی BA (۰/۱ میلی‌گرم در لیتر)، باعث پرآوری بالاتری نسبت به محیط بدون هورمون می‌شود و غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بهترین پاسخ را دارد. درصد ریشه‌زایی، تعداد و رشد ریشه‌ها در شاخساره‌های عناب در مقایسه با شاهد بدون هورمون نشان می‌دهد که نقش هورمون IBA، در ریشه‌زایی عناب بسزا است، ولی بین سطوح مختلف IBA تفاوت معنی‌داری در صفات مورد مطالعه دیده نشد. برای سازگاری نیز بستر رس: پیت: پرلیت و یا رس: پیت: ورمیکولیت: پرلیت به نسبت مساوی موجب سازگاری بهتر و زنده‌مانی بیشتر گیاهچه‌ها گردید.

جدول ۵- نتایج تجزیه واریانس اثر بستر کشت بر زنده مانی گیاهچه عناب

Table 5. ANOVA results of the effect of planting bed on survival of jujube plantlet

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات درصد زنده‌مانی Mean square of survival (%)
بستر کشت Planting bed	2	419.1**
خطا Error	9	38.4
درصد ضریب تغییرات CV (%)		9.1

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد

**: significant at 1% probability level

شکل ۳- سازگاری گیاهچه عناب

Figure 3- Acclimatization of jujube plantlet

جدول ۶- مقایسه میانگین اثر بستر کشت بر زنده مانی گیاهچه عناب

Table 6. Mean comparison of the effect of planting bed on survival of jujube plantlet

بستر کشت Planting bed	درصد زنده‌مانی Survival (%)
clay: perlite	66.7 b
clay: peat: perlite	87.2 a
clay: peat: vermiculite: perlite	76.1 ab

اعداد دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۱ درصد ندارند.

Numbers with same letter do not significant difference base Duncan multiple range test at 1% probability level.

www.iapb.kiau.ac.ir

References **فهرست منابع**

آذرپژوه، ا.، مختاریان، ع. ۱۳۸٤. بررسی زمان مناسب، فرآوری و بسته بندی میوه عناب. پژوهش و سازندگی. ۷۴: ۱۹۳-۱۹۹.

ثابتی، ح. ۱۳۷۳. جنگل‌ها، درختان و درختچه‌های ایران. انتشارات دانشگاه یزد.

حسین آوا، س. ۱۳۸۱. عناب. انتشارات معاونت ترویج سازمان ترویج و آموزش کشاورزی.

خاکدامن، ح.، پورمیدانی، ع.، ادنانی، س.م. ۱۳۸۵. بررسی تنوع ژنتیکی اکوتیپ‌های مختلف عناب (*Zizyphus jujube* Mill.) در ایران با استفاده از تجزیه خوشه‌ای. فصل‌نامه تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۱۴(۴): ۲۰۲-۲۱۴.

خزائی، ع.، مشتاقی، ن.، ملک زاده، س.، غوث، ک. ۱۳۹٤. ریزازدیادی عناب (*Zizyphus jujuba*). نشریه علوم باغبانی. ۲۹(۲): ۱۵۱-۱۵۷.

عصاره، م.ح. ۱۳۸۷. ویژگی‌های زیستی درختان کنار در ایران و معرفی سایر گونه‌ای جنس زیزیفوس. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور.

غوث، ک. ۱۳۸۸. عناب میوه فراموش شده. انتشارات سعیدی منش.

مظفریان، و. ۱۳۸۳. درختان و درختچه های ایران. انتشارات فرهنگ معاصر.

میرحیدر، ح. ۱۳۷۵. معارف گیاهی، جلد ششم. دفتر نشر فرهنگ اسلامی.

میری، س.م.، واعظ لیواری، ب.، خلیقی، ا.، قائم مقامی، س.ع. ۱۳۸۲. کاهش اکسیداسیون فنلی و پرآوری درون شیشه‌ای شاخساره همگروه‌های سیب 'M.9' و 'M.26'. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۴(۴-۳): ۱۵۴-۱۴۵.

وست وود، ام.ان. ۱۳۷۰. میوه‌های مناطق معتدله. ترجمه: رسول‌زادگان، ی. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان.

Abass, N. H. 2010. Rapid multiplication and *ex vitro* rooting of *Zizyphus mauritiana*. Journal of Applied Sciences Research, 6(1): 63-69.

Erfani, M., S. M. Miri., and A. Imani. 2017. *In vitro* shoot proliferation and rooting of Garnem rootstock as influenced by basal media, plant growth regulators and carbon sources. Plant Cell Biotechnology and Molecular Biology, 18(3&4): 101-109.

Fallahpour, M., S. M. Miri., and N. Bouzari. 2015. *In vitro* propagation of 'Gisela 5' rootstock as affected by mineral composition of media and plant growth regulators. Journal of Horticultural Research, 23(1): 57-64.

Feng, J. C., X. M. Yu., X. L. Shang., J. D. Li., and Y. X. Wu. 2010. Factors influencing efficiency of shoot regeneration in *Ziziphus jujuba* Mill. 'Huizao'. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 101: 111-117.

Goyal, D., S. Bhadauria., and A. Kumar. 2006. A protocol for *in vitro* propagation of ber (*Ziziphus jujuba*). Indian Journal of Plant Physiology, 11:178-181.

Hossain, S. N., M. K. Munshi., M. R. Islam., L. Hakim., and M. Hossain. 2003. *In vitro* propagation of plum (*Zyziphus jujuba* Lam.). Plant Tissue Culture, 13(1): 81-84.

Lloyd, G., and B. McCown. 1980. Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia* by use shoot-tip culture. International Plant Propagators' Society Proceedings, 30:421-427.

Miri, S. M., and S. A. Ghaem Maghami. 2011. Induction of adventitious rooting *in vitro* in apple rootstocks. 46th Croatian & 6th International Symposium on Agriculture, 14-18 February 2011, Opatija, Croatia.

www.iapc.kiau.ac.ir

Morton, J. 1987. Indian Jujube. Fruit of Warm Climates. JF Morton. 272-275.

Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum, 15(3): 473–497.

Soliman, H.I., and G. Hegazi. 2013. *In vitro* clonal propagation and molecular characterization of jujube (*Ziziphus jujuba* Mill.). Life Science Journal, 10(2): 573-582.

Shu-Xin, H., and Z. Xiao-Hong. 2007. Propagation of Gagazao (*Zizyphus jujuba*) with stalk segment by tissue culture. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 21:369-371.

Zhou, R.J., and M. J. Liu. 2009. Effect of plant growth regulators on tissue culture in Chinese jujube. Acta Horticulturae, 840: 309-314.

www.iapb.kiau.ac.ir

ISSN NO: 2008-8485

Journal of Agronomy and Plant Breeding
Vol 13. No. 4, 2017

Optimization of micropropagation of jujube (*Ziziphus jujuba* cv. Tian-yuzao)

S. S. Mousavi[1], S. M. Miri[1*], P. Moradi[2]

Received date: 19 June 2017 Accepted date: 11 Sep 2017

Abstract

In order to study the effect of culture media and growth regulators on proliferation and rooting of jujube cultivar Tian-yuzao, this experiment was conducted as a factorial experiment in a completely randomized design with four replications. For proliferation, MS and WPM culture media supplemented with 0, 0.1, 0.5, 1 and 2 mg.l^{-1} BA (benzyladenine), and for rooting, the mentioned culture media containing 0, 1, 5 and 10 mg.l^{-1} IBA (indole-butyric acid) were used. Based on the results of analysis of variance, there was no significant difference between MS and WPM for proliferation and rooting traits. The results of the mean comparison showed that the highest percentage of proliferation (73-76%) and number of shoots (3.1-3) were obtained in medium containing 1 and 2 mg.l^{-1} BA, but the maximum shoot length (74 mm), fresh weight (296 mg) and dry weight (44 mg) were observed in media supplemented with 1 mg.l^{-1} BA. Rooting percentage, number of root and root length of all media containing IBA were not significantly different but showed significant increase compared to control. Adaptation results showed that 87.2% of plantlets survived in the bed of clay: peat: perlite (1:1:1).

Keywords: Jujube, Proliferation, Rooting, Medium, Growth regulators

www.iapb.kiau.ac.ir

1. Department of Horticulture, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran
2. Department of Horticulture, Saveh Branch, Islamic Azad University, Saveh, Iran
* Corresponding author: smmiri@kiau.ac.ir

Iranian Journal of Agronomy & Plant Breeding Islamic Azad University, Karaj Branch