

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات

فنوتیپی زرشک (*Berberis vulgaris*) از طریق کشت بافت

قنبر لایی (نویسنده مسئول)*

*استادیار، گروه زراعت، واحد دامغان، دانشگاه آزاد اسلامی، دامغان، ایران، Gh.laei@iau.ac.ir

تاریخ دریافت: مرداد ۱۴۰۳ تاریخ پذیرش: مهر ۱۴۰۳

Investigating the effect of the number of lateral buds, type of barberry shrub and BAP hormone on the growth rate of phenotypic traits of barberry through tissue culture

Ghanbar laei (Corresponding author)*

*Assistant Professor, Department of Agriculture, Damghan Branch, Islamic Azad University, Damghan, Iran, Gh.laei@iau.ac.ir

Received: July 2024

Accepted: October 2024

Abstract

In order to investigate the effect of the number of lateral buds, the type of barberry shrub and the benzylaminopurine (BAP) hormone on the growth rate of the phenotypic traits of barberry (*Berberis vulgaris*) through tissue culture, a factorial experiment in the form of a completely randomized design in three replications and in three replications. Factors, the first factor of three types of barberry shrubs (seedless, seeded and ornamental), the second factor of BAP hormone at four levels (0, 1, 2, 3 mg/L) and the third factor of the number of lateral buds. It was done at two levels (1 and 2 buds) in the laboratory of Islamic Azad University, Damghan branch in 2020. The culture medium used was based on Murashige and Stooze (MS). After preparing the culture medium and sterilizing it by autoclave, it was distributed in test tubes. After preparation, the samples were cultured in a sterile environment and then the samples were stimulated to grow using growth hormone. The studied traits included the time of greening, number of leaves, length, width and surface of leaves, ratio of width to length of leaves, fresh weight and dry weight of leaves, ratio of fresh to dry weight and freshness after 30 days of cultivation. Finally, after collecting information, the data obtained from the experiment was organized and then variance analysis was performed with SAS statistical software and comparison of averages was performed with Duncan's test. Pearson's correlation coefficient was used to determine the relationship between traits. The triple interaction effect of the number of sprouts \times type of barberry shrub \times BAP hormone was significant at the 1% probability level on all investigated traits, except the amount of freshness on the 30th day. Correlation coefficient between leaf dry weight with number of leaves ($r=0.86^{**}$), leaf length ($r=0.78^{**}$), leaf width ($r=0.73^{**}$), leaf surface ($r=0.76^{**}$), leaf fresh weight ($r=0.95^{**}$) was positive and significant at 1% probability level.

Keywords: Barberry, Benzylaminopurine, Bud Count, Ornamental, Tissue C

Iranian Journal of Plant & Biotechnology
Summer 2024, Vol 19, No 2, Pp 48-63

چکیده

به منظور بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین (BAP) بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک (*Berberis vulgaris*) از طریق کشت بافت، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و با سه عامل، عامل اول سه نوع درختچه زرشک (بیدانه، دانه دار و زیتنی)، عامل دوم هورمون BAP در چهار سطح (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم بر لیتر) و عامل سوم تعداد جوانه جانبی در دو سطح (۱ و ۲ جوانه) در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان در سال ۱۳۹۹ انجام شد. محیط کشت مورد استفاده بر پایه مورا شیکی و اسکوک (MS) بود. پس از آماده سازی محیط کشت و استریل آن توسط اتوکلاو در لوله های آزمایش توزیع گردید. پس از آماده سازی، نمونه ها در محیط استریل کشت داده شدند و سپس نمونه ها با استفاده از هورمون رشد تحریک به رشد شدند. صفات مورد بررسی شامل زمان سبز شدن، تعداد برگ، طول، عرض و سطح برگ، نسبت عرض به طول برگ، وزن تر و وزن خشک برگ و میزان شادابی پس از ۳۰ روز کشت بود. در نهایت پس از جمع آوری اطلاعات، داده های به دست آمده از آزمایش سازماندهی و سپس با نرم افزار آماری SAS9.3 تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها با آزمون دانکن انجام شد. به منظور تعیین روابط بین صفات از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. اثر متقابل سه گانه تعداد جوانه \times نوع درختچه زرشک \times هورمون BAP روی همه صفات مورد بررسی بجز میزان شادابی در روز ۳۰ در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود. ضریب همبستگی نشان داد بین وزن خشک برگ با تعداد برگ ($r=0.86^{**}$)، طول برگ ($r=0.78^{**}$)، عرض برگ ($r=0.73^{**}$)، سطح برگ ($r=0.76^{**}$)، وزن تر برگ ($r=0.95^{**}$) مثبت و در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود.

کلمات کلیدی: بنزیل آمینوپورین، تعداد جوانه، زرشک، زیتنی، کشت بافت

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران

تابستان ۱۴۰۳، دوره ۱۹، شماره ۲، صص ۴۸-۶۳

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۴۹

مقدمه و کلیات

که ۲۹۰۹ هکتار آبی و ۱۵۴ هکتار دیم و در مجموع کل سطح زیر کشت ۱۷۲۰۹ هکتار در کشور می باشد. که با تولید ۱۹۱۲۴ تن محصول خشک (معادل حدود ۶۰۰۰۰ تن محصول تر) در سال و ارزش کل تولیدی با قیمت کیلویی ۵۰ هزار تومان در حدود ۹۵۶۲۰۰۰۰۰۰۰۰۰۰ تومان در سال مطرح بوده و در صورتی که این محصول جایگاه واقعی خود را در صادرات کسب کند، تاثیر آن بر اقتصاد کشور نیز چشمگیر تر خواهد بود. طی سال های گذشته یعنی از سال ۱۳۸۰ تا سال ۱۳۹۸ سطح زیر کشت زرشک بیدانه از ۶۲۷۵ هکتار به حدود ۱۷۲۰۹ هکتار رسیده است که بیانگر حدود ۳ برابر شدن این سطح می باشد در همین مدت تولید زرشک از ۷۰۰۰ تن به حدود ۱۹۱۲۴ تن در سال افزایش یافته است. با مقایسه این دو عدد این نتیجه عاید می شود که افزایش تولید در این گیاه بر اثر افزایش سطح زیر کشت بوده است و افزایش عملکرد در واحد سطح، نقشی چندانی در افزایش تولید این محصول تاکنون نداشته است. بنابراین سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد محصول زرشک در کشور به تفکیک استان در جدول (۱) گزارش گردیده است.

گونه های زرشک

گونه های زرشک در ایران شامل زرشک زالزالکی (*B. Crataegina*)، زرافشانی زرشک (*B. Integerrima*)، زرشک خراسانی (*B. Khorasanica*)، راست زرشک خوشه (*B. Orthobotrys*)، زرشک معمولی (*B. Vulgaris*)، زرشک ژاپنی (*B. Thunbergii*) و (*var. atropurpurea*) می باشد (متین و ترمه، ۱۳۹۶ و حاجی زاده خنامانی، ۱۳۹۵).

در سرزمین ایران استعداد های فراوانی در ارتباط با تولید محصولات باغی و زراعی وجود دارد، در این راستا باید به محصولاتی نظیر زرشک بیدانه که خاستگاه آن ایران است توجه بیشتری گردد (کافی و بالندری، ۱۳۸۱). با توجه به وسعت کشور و دارا بودن خاک های نامناسب و شرایط نامناسب محیطی نظیر کمبود بارندگی در اکثر مناطق ایران و محدودیت منابع آبی طبق بررسی های به عمل آمده درختچه زرشک می تواند رشد نماید و عملکرد مناسبی در بسیاری از مناطق که برای سایر محصولات کشاورزی مناسب نیست داشته باشد (نظری، ۱۳۹۴). زرشک با نام علمی *Berberis vulgaris* از جنس *Berberis* متعلق به خانواده *Berberidaceae*، تیره *Ranunculaceae* و در رده دو لپه ای های جدا گلبرگ و دیپلوئید با ۲۸ کروموزوم و گروهی نیز آن را پلی پلوئید می گویند که احتمالاً منشاء آن از دیپلوئیدها می باشد (لایی و همکاران، ۱۳۸۷). جنس زرشک دارای بیش از ۶۶۰ گونه است که فقط یک نوع آن یعنی زرشک بی دانه (*Berberis vulgaris var. asperma*) به عنوان محصول باغی در خراسان پرورش می یابد (سازمند و همکاران، ۱۳۹۱). بر اساس گزارش های موجود علاوه بر خراسان در استان های آذربایجان شرقی، فارس، کرمان، گیلان و استان های شمال غربی، بخش هایی از کردستان، اصفهان، یزد و اطراف تهران و غیره نیز گزارش شده است (نظری، ۱۳۹۴). در حال حاضر درختچه زرشک بیدانه با سطح زیر کشت ۱۴۱۴۶ هکتار باغات بارور که ۱۴۱۳۲ هکتار آبی و ۱۴ هکتار دیم و ۳۰۶۳ هکتار سطح زیر کشت باغات غیر بارور

جدول ۱- سطح زیر کشت، میزان تولید و عملکرد محصول زرشک در کشور به تفکیک استان‌ها

Table 1- Cultivated Area, Production and Yield of Barberry in the Country by Provinces

استان	سطح غیر بارور (هکتار)			سطح بارور (هکتار)			میزان تولید (تن در هکتار)	عملکرد (تن در هکتار)
	هکتار	تن	تن/هکتار	هکتار	تن	تن/هکتار		
آذربایجان شرقی	۵	۰	۰	۲۵	۰	۰	۳۶	۱۴۴۴
اردبیل	۶/۶	۰	۰	۰/۵	۰	۰	۰	-
اصفهان	۱۰	۰	۰	۱۱	۰	۰	۱۱	۱۰۰۰
البرز	۱/۱	۱	۲.۱	۶/۵	۰	۰	۱۵	۲۳۳۴
تهران	۰	۵	۵	۰/۱	۰	۰	۰/۲	۲۵۰۰
خراسان جنوبی	۲۷۰۳	۱۴۷	۲۸۵۰	۱۳۸۷۷	۰	۰	۱۸۸۳۰	۱۳۵۷
خراسان رضوی	۲۹	۰	۲۹	۱۲۷	۰	۰	۱۲۵	۹۸۴
خراسان شمالی	۱۰	۰	۱۰	۲۳	۰	۰	۹/۲	۴۰۰
سمنان	۲۳	۰	۲۳	۲۰	۰	۰	۳۱	۱۵۹۹
سیستان و بلوچستان	۸	۰	۸	۴/۵	۰	۰	۲/۴	۵۴۲
فارس	۳	۰	۳	۱/۴	۰	۰	۳	۲۱۴۳
کردستان	۲	۰	۲	۲	۰	۰	۵	۲۵۰۰
کرمان	۹۴	۰	۹۴	۱۸	۰	۰	۲۶	۱۵۰۰
کرمانشاه	۰/۱	۰	۰/۱	۰	۰	۰	۰	-
گلستان	۰	۰/۸	۰	۰	۰	۰	۰	۰
گیلان	۰	۰	۰	۱۵/۵	۱۴	۱/۵	۵	۱۳۳۰
لرستان	۸	۰	۸	۱۲	۰	۰	۹	۷۵۰
مرکزی	۰	۰	۰	۱	۰	۰	۱	۱۰۰۰
یزد	۷	۰	۷	۲/۵	۰	۰	۱/۶۳	۶۵۱

آمار نامه وزارت جهاد کشاورزی / <http://www.agriis.ir/doc/45543/>

جدید بهره چندان برده نشده است. جهش قابل توجهی که در عملکرد اکثر محصولات زراعی و باغی در نیمه دوم قرن بیستم اتفاق افتاده در مورد درختچه زرشک بیدانه مصداق نداشته است. چنین وضعیتی قدرت رقابت اقتصادی زرشک بیدانه را با گیاهان زراعی و سایر محصولات باغی منطقه‌های دیگر کاهش می‌دهد. لذا، نگرش علمی به تولید زرشک بیدانه و پژوهش در مورد این گیاه زراعی امری اجتناب ناپذیر می‌باشد (کافی و بالندری، ۱۳۸۱). زرشک بی دانه امروزه به وسیله پاجوش تکثیر می‌شود و این

با توجه به اینکه فلات پهناور ایران، یکی از مراکز طبیعی رشد درختان میوه محسوب می‌شود با وجود قدمت پرورش درختان میوه در ایران، امروزه ما از پیشرفت‌هایی که در روش‌های نوین باغداری دنیا به وجود آمده کمتر بهره برداری شده است. در نتیجه ایران با داشتن شرایط اقلیمی متنوع و مناسب، نتوانسته جایگاه شایسته‌ای را از نظر اقتصادی در میان کشورهای تولید کننده میوه به دست آورد (منیعی، ۱۳۶۹). با وجود سابقه چند قرن پرورش زرشک بیدانه در کشور ایران، هنوز در تولید این درختچه از علم

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۵۱

قلمه های زرشک ژاپنی (*B.thunbergii*) تهیه شده از گیاهان مادری انجام دادند که در شرایط نور کامل از ۳۷٪ تا ۱۰۰٪ رشد کرده و تحت تیمارهورمونی IBA (۱٪، ۳٪ و ۸٪ درصد) در سیستم مه افشان متناوب قرار گرفتند، که نشان داد قلمه های این گونه و رقم «آتروپور پوره آ» آن، در تیمار ۷٪ نور آفتاب بر گیاهان مادری ریشه زائی مطلوب تری داشتند. نتیجه یک تحقیق روی گونه *B.trifoliata* با استفاده از محیط کشت پایه گیاهان چوبی حاکی است که سن شاخه بر رویش تعداد شاخساره در ریز نمونه ها تاثیری نداشت، اما بر ریشه زائی موثر بوده است (Molinar et al., 1996). نتایج پژوهش دیگری نشان داد که در گونه *B.thunbergii* استفاده از ۲ میلی گرم در لیتر بنزول آدنین، شاخه دهی جانبی را تسریع و تحریک نموده است و بهترین نتیجه ریشه زائی ریز شاخه ها از محیط کشت بدون اکسین پس از تحریک با اکسین حاصل گردیده است (Karhu and Hakala, 1991). از سوی دیگر استفاده از محیط کشت گیاهان چوبی (WPM) همراه با نور اثر مثبتی در شاخه زایی نمونه های کشت شده داشته است. همچنین ریز نمونه های با دو گره نسبت به تک گره ها و آنهایی که به صورت عمودی در سطح محیط کشت قرار گرفتند، شاخه زائی بیشتری داشتند (Lafferrie and Ahrendt, 1977). سازمند و همکاران (۱۳۹۱) در آزمایشی محیط کشت MS حاوی ۱/۱ میلی گرم در لیترهورمون BAP بهترین محیط برای باززایی مستقیم زرشک بیدانه گزارش نمودند. سلامی (۱۳۹۳) در آزمایشی اثر تنظیم کننده های مختلف رشد گیاهی در ریزازدیادی زرشک بی دانه مورد بررسی قرار داد و بیان نمودن محیط WPM حاوی ۱/۵ میلی گرم در لیتر BA بهترین محیط برای

روش تکثیر محدودیت هایی را به دنبال دارد. ولی انواع دیگر زرشک (دانه دار و زیتنی) به وسیله بذر، خوابانیدن، پیوند و قلمه زدن تکثیر می شوند. تکثیر رویشی که شامل قلمه زدن، خوابانیدن و پیوند زدن می باشد. از دیرباز در کشاورزی اهمیت داشته و از آن در تکثیر گیاهان زراعی، درختان میوه و غیره استفاده می شود. البته روش های تکثیر رویشی در شرایط طبیعی در برخی موارد کارآمد نبوده و روش جدیدی از کشت گیاهان، تحت عنوان کشت سلول و بافت گیاهی معرفی و ارائه شده است. کشت سلول و بافت گیاهی که با عنوان کشت درون شیشه (Invitro) و یا کشت استریل نیز مطرح می شود و در مورد تمام انواع کشتهای استریل که در شرایط درون شیشه ای انجام می گیرد، به کار می رود. در حال حاضر تکنیکهای کشت بافت به عنوان ابزاری قوی جهت مطالعه مشکلات اساسی و کاربردی بیولوژی گیاهی در آمده است. از گذشته های دور زرشک بیدانه اغلب به روش قلمه و پاجوش تکثیر می شده است که خیلی زمان بر بوده است، اما با استفاده از روش کشت بافت می توان تکثیر سریعی در محیط اینویترو انجام داد (سازمند و همکاران، ۱۳۹۱). امروزه تحقیقاتی نیز در زمینه استفاده از کشت بافت در زمینه ریشه زائی و شاخه زائی و پاکشت سلولی برای تولید گونه های مختلف زرشک صورت گرفته است. نتایج آزمایشات در مورد ریشه زایی زرشک هندی نشان داد که بیشترین تعداد ریشه در قلمه و بیشترین طول ریشه و درصد ریشه زایی ۸۶/۶۶٪ در سال ۱۹۹۲ و ۸۳/۳۳٪ در سال ۱۹۹۳ از تیمار ۵۰۰ قسمت در میلیون IBA حاصل شده است (Shah and singh-Bhujwon, 1999). در پژوهشی (Knox and Hamilton, 1982) که روی

مراحل مختلف سترون سازی به محیط های کالوس زایی حاوی مقادیر مختلف هورمون های GA_3 , IAA, BAP, BA, Kin منتقل نمودند که نتایج آنان نشان داد که محیط MS حاوی ۱۰ میکرومول بر لیتر BAP بهترین محیط برای کالوس زایی زرشک بیدانه است. در مطالعه ای زیارت نیا و همکاران (۱۳۹۰) روی کالوس زایی زرشک بیدانه نشان دادند تیمارهای هورمونی که دارای Kin, NAA و BN بودند، در القای کالوس موثر بودند به طوری که در اکثر تیمارها با فراوانی های متفاوت تشکیل کالوس مشاهده نمودند. همچنین بهترین ترکیب هورمونی جهت القای کالوس در زرشک ۲ میلی گرم در لیتر NAA و ۱ میلی گرم در لیتر Kin به دست آوردند (Ziaratina et al., 2012). در مطالعه ای ریزازدیادی گیاه *Mahonia soft caress* از خانواده Berberidaceae از محیط کشت پایه B5 همراه با ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و ۵ میلی گرم هورمون BAP، ۵ میلی گرم Kinetin، ۰/۵ میلی گرم IAA و ۲/۵ میلی گرم اسید جیبرلیک به عنوان بهترین محیط کشت برای تکثیر شناخته شد. ولی غلظت ۸ میلی گرم هورمون BAP اثر معنی داری روی درصد ریشه زایی نشان داد (Todd Jeffrey Rounsaville, 2011). سازمند و صفرنژاد (۱۳۹۵) در آزمایشی در بررسی القای کالوس و پرآوری زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris*) در شرایط درون شیشه ای بهترین هورمون BAP برای باززایی گزارش نمودند. مزگی نژاد (۱۳۹۷) در آزمایشی به بررسی زیست مانی درون شیشه ای کالوس های زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris* L) پرداخت و در آزمایش اول ترکیب هورمونی مناسب برای القا و رشد کالوس از برگ

باززایی زرشک بی دانه بوده است. همچنین مشخص نمود که ریزنمونه های با دو گره نسبت به یک گره رشد و باززایی بهتری داشتند. در مجموع نتیجه گرفت که ریزنمونه های دارای دو گره به همراه تنظیم کننده رشد BA برای باززایی زرشک بی دانه موثرترین فاکتور است. سازمند و همکاران (۱۳۹۱) باززایی با استفاده از ترکیب هورمون های مختلف BA, GA_3 , IAA, BAP, IBA, Kin در محیط کشت پایه MS و B5 برای زرشک مورد بررسی قرار دادند و گزارش نمودند که در بین ریزنمونه های جمع آوری شده ریزنمونه هایی که از اوایل اردیبهشت تا اواخر خرداد جمع آوری شده بودند بیشترین باززایی را داشتند و همچنین نتایج نشان داد که محیط MS حاوی ۱/۱ میلی گرم در لیتر هورمون BAP بهترین محیط برای باززایی مستقیم زرشک بیدانه است. محیط MS حاوی 0/01mg/l BA + 2mg/l IBA بهترین محیط پرآوری زرشک شناخته شد. زیارت نیا و سلمانی (۱۳۹۱) در پژوهشی با هدف بهینه سازی عوامل مؤثر در کالوس زایی زرشک بیدانه از ۲۴ ترکیب تنظیم کننده های رشدی شامل D-۲,۴ و NAA به میزان ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر به همراه BA و Kin به میزان ۱، ۴ و ۸ میلی گرم در لیتر در محیط کشت B5 جهت القای کالوس استفاده نمودند و گزارش نمودند 2 mg/l NAA به همراه 1mg/l Kin بهترین ترکیب هورمونی در کالوس زایی در محیط کشت B5 می باشد. سازمند و همکاران (۱۳۹۱) در تحقیقی اثر هورمون های مختلف رشد گیاهی بر کالوس زایی زرشک بیدانه مورد بررسی قرار دادند و از جوانه های جانبی به طول ۱سانتیمتر به عنوان ریز نمونه استفاده نمودند. ریز نمونه ها بعد از

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۵۳

فرآیند پژوهش

به منظور بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و هورمون بنزیل آمینوپورین (BAP) بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک (*Berberis vulgaris*) از طریق کشت بافت، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و با سه عامل، عامل اول سه نوع درختچه زرشک (بیدانه، دانه دار و زیتنی)، عامل دوم هورمون BAP در چهار سطح (صفر، ۱، ۲ و ۳ میلی گرم برلیتر) و عامل سوم تعداد جوانه جانبی در دو سطح (۱ و ۲ جوانه) در آزمایشگاه دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان در سال ۱۳۹۹ انجام شد. محیط کشت مورد استفاده بر پایه مورا شیگی و اسکوگ (MS) بود. پس از آماده سازی محیط کشت و استریل آن توسط اتو کلاو، در لوله های آزمایش توزیع گردید. پس تهیه نمونه ها و استریل و کشت آنها سپس به اتاقک رشد انتقال داده شدند و در دمای 25 ± 1 درجه سانتیگراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی تحت شد لامپ های سفید سرد فلورسنت قرار گرفتند و سپس با استفاده از هورمون های رشد نمونه ها تحریک به رشد شدند که در شکل های (۱، ۲ و ۳) به تربیت نوع درختچه های زرشک و روند رشد نمونه ها در محیط کشت بافت قابل رویت است. در این تحقیق صفات زمان سبز شدن، تعداد برگ، طول، عرض و سطح برگ، نسبت عرض به طول برگ، وزن تر و وزن خشک برگ، نسبت وزن تر به خشک و میزان شادابی پس از ۳۰ روز کشت مورد بررسی قرار گرفت. پس از جمع آوری اطلاعات، داده های حاصل از آزمایش سازماندهی و سپس توسط نرم افزار آماری SAS تجزیه واریانس و مقایسه میانگین ها توسط

زرشک بیدانه و محیط $MS/2+ 0.5 \text{ mg/l } 2-4-D + 2$ (BAP mg/l بهترین ترکیب هورمونی گزارش نمود. در آزمایش دیگری جهت تعیین محیط کشت بهینه زیست مانی دو هورمون BAP (۲ میلی گرم) و TDZ (۱۵ میلی مولار) بصورت جداگانه در ترکیب با هریک از عوامل متیل جاسمونات (۱ و ۲ میلی گرم)، نانو ذرات اکسید آهن (۷۵ و ۱۰۰ ppm) و نانو ذرات اکسید روی (۷۵ و ۱۰۰ ppm) استفاده نمود در نهایت مشاهده ظاهری زیست مانی کالوس ها نشان داد، تیمارهای حاوی BAP نسبت به تیمارهای TDZ از نظر ظاهری، دارای زیست مانی بالاتری بودند. بطوری که زیست مانی در تیمار BAP نانو اکسیدروی با غلظت (۷۵ ppm) را ۱۰۰ درصد گزارش نمود. به طور کلی، ارزیابی کالوس ها بیانگر کارکرد بالای نانو ذرات، به خصوص نانو ذرات اکسید روی، بر کاهش ترکیبات فنولی و قهوه ای شدن گزارش نمود. از آنجایی که نتایج تحقیقات انجام شده نیز مشکل ریشه زای بودن، قلمه های زرشک بیدانه مشخص نموده تاکنون موفقیت کمی در ریشه دار کردن قلمه های آن حاصل شده است (سازمند و همکاران ۱۳۹۱). از طرفی تاکنون گزارشی از انجام موفق آمیز ریزازدیادی در زرشک بخصوص بی دانه ارایه نشده است و تنها راه موجود جهت ازیاد آن تکثیر از طریق کشت پا جوش بوده است (Kafi and balandri, 2002). لذا با توجه به اینکه زرشک بیدانه اغلب به روش قلمه و پاجوش تکثیر می شود که خیلی زمان بر است، در صورت موفقیت با استفاده از روش کشت بافت می توان تکثیر سریعی در محیط درون شیشه ای انجام داد که تاکنون گزارشی مبنی بر کشت بافت موفق در زرشک گزارش نشده است.

آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد و به منظور تعیین روابط صفات از ضریب همبستگی پیرسون استفاده شد. برای ترسیم نمودار از نرم افزار Excel استفاده گردید.



شکل ۱- از راست به چپ به ترتیب درخت زرشک دانه دار، زینتی و بیدانه

Fig 1- From right to left, grainy, ornamental and seedless barberry tree



شکل ۲- نمای از دستگاه انکوباتور

Fig 2- Growth process of samples in tissue culture medium



شکل ۳- روند رشد نمونه ها در محیط کشت بافت

Fig 3- View of the incubator device

نتایج و بحث

۳۰ روز پس از کشت در سطح احتمال ۱٪ درصد معنی دار بود، ولی روی زمان سبز شدن و تعداد برگ اثر معنی داری نداشت. اثر متقابل سه گانه نوع زرشک × BAP × تعداد جوانه روی تعداد برگ، عرض برگ، طول برگ، سطح برگ، نسبت عرض به طول برگ، وزن تر برگ ها، وزن خشک برگ ها و میزان شادابی برگ ها ۳۰ روز پس از کشت در سطح احتمال ۱٪ درصد معنی دار بود، ولی روی زمان سبز شدن اثر معنی داری نداشت (جدول ۲).

تجزیه واریانس اثر اصلی تعداد جوانه، هورمون BAP، نوع درختچه زرشک و اثر متقابل نوع زرشک × تعداد جوانه بر زمان سبز شدن، تعداد برگ، عرض برگ، طول برگ، سطح برگ، نسبت عرض به طول برگ، وزن تر برگ ها، وزن خشک برگ ها و میزان شادابی برگ ها ۳۰ روز پس از کشت در سطح احتمال ۱٪ درصد معنی دار بود. اثر متقابل دوگانه نوع زرشک × تعداد جوانه و نوع زرشک × BAP روی عرض برگ، طول برگ، سطح برگ، نسبت عرض به طول برگ، وزن تر برگ ها، وزن خشک برگ ها و میزان شادابی برگ ها

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع درختچه زرشک، تعداد جوانه و هورمون BAP بر متغیرهای مورد بررسی در زرشک

Table 2- Analysis of variance the effect of effect of number of buds, type of barberry shrub and BAP hormone on the studied variables in barberry

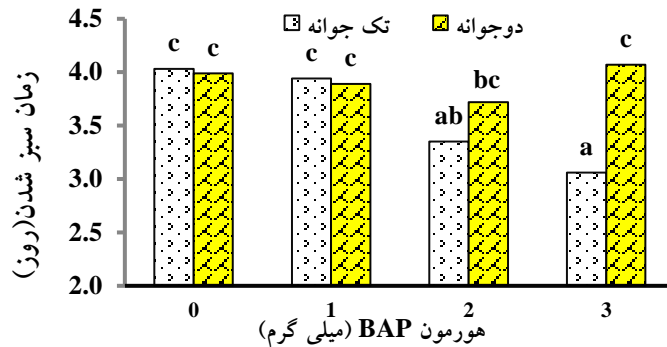
زمان سبز شدن	میانگین مربعات					نسبت عرض به طول برگ	وزن تر برگ‌ها	وزن خشک برگ‌ها	میزان شادابی در روز ۳۰	درجه	منابع تغییرات
	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	سطح برگ	عرض برگ						
3.69**	581.95**	3.52**	2.29**	524.13**	0.0046**	348.97**	55.91**	3.06**	1	تعداد جوانه	
2.67**	17.93**	120.84**	23.00**	8299.41**	0.0065**	71.25**	11.40**	20.06**	3	BAP	
5.91**	3.63**	6.44**	5.58**	1213.99**	0.01**	3.95**	0.62**	0.19**	2	نوع زرشک	
1.62**	2.68**	2.48**	0.58**	31.55**	0.0110**	7.38**	1.17**	2.06**	3	تعداد جوانه *BAP	
0.08 ns	0.47 ns	7.92**	0.99**	448.78**	0.0029**	1.79**	0.28**	0.06**	2	نوع زرشک * تعداد جوانه	
0.13 ns	0.70 ns	1.76**	1.21**	241.22**	0.0043**	0.95**	0.15**	0.19**	6	نوع زرشک *BAP	
0.18 ns	1.29**	1.23**	1.31**	207.28**	0.0058**	1.70**	0.27**	0.06**	6	نوع زرشک *BAP *تعداد جوانه	
0.2۰1	0.3311	0.19۰4	0.08۰1	18.19۰1	0.0002	0.24۰3	0.041	0.000	48	خطای آزمایش	
11.95	8.6۱	2.84	4.17	6.26	3.4۲	10.۵۰	10.4۱	0.000		ضریب تغییرات (CV)	

ns, * and ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1% level, respectively

به رشد و سبز شدن نمود ولی در حالت داشتن دو جوانه جانبی و غلظت ۳ میلی گرم برلیتر هورمون BAP رشد و سبز شدن با تاخیر نسبت به حالت های دیگر صورت گرفت (نمودار ۴).

مقایسه میانگین اثر متقابل دوگانه تعداد جوانه جانبی × BAP هورمون بر روی زمان سبز شدن نشان داد که در غلظت ۳ میلی گرم برلیتر هورمون BAP و در حالت داشتن یک جوانه جانبی از نظر زمان سبز شدن نسبت به حالت های دیگری برتری نشان داد و زودتر شروع



شکل ۴- اثر متقابل تعداد جوانه جانبی و هورمون BAP بر روی مدت زمان سبز شدن گیاه زرشک

Fig 4- The interaction effect of the number of lateral buds and BAP hormone on the duration of barberry plant germination

زیستی با تعداد یک جوانه جانبی غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین مقدار سطح برگ با ۴۰/۱۲ میلی مترمربع در نوع درختچه زرشک بیدانه با تعداد یک جوانه جانبی و غلظت صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین مقدار نسبت عرض به طول برگ با ۰/۵۱ میلی متر در نوع درختچه زرشک بیدانه با تعداد دو جوانه جانبی غلظت صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین مقدار نسبت عرض به طول برگ با ۰/۳۶ میلی متر در نوع درختچه زرشک بیدانه با تعداد دو جوانه جانبی غلظت ۲ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین وزن تر برگ ها با ۸/۳۹ گرم در نوع درختچه زرشک زیستی با تعداد دو جوانه جانبی و با غلظت ۳ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین مقدار وزن تر برگ ها با ۱/۶۶ گرم در نوع درختچه زرشک دانه با تعداد یک جوانه جانبی و با غلظت صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین وزن خشک برگ ها با ۳/۳۵ گرم در نوع درختچه زرشک زیستی با تعداد دو جوانه جانبی و با غلظت ۳ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP بود و کمترین وزن تر برگ ها با ۰/۵۸ گرم در نوع درختچه زرشک دانه با تعداد یک جوانه

مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه بین نوع درختچه زرشک × هورمون BAP × تعداد جوانه جانبی نشان داد بیشترین تعداد برگ با میانگین ۹/۸۲ عدد برگ در نوع زرشک زیستی در حالت داشتن دو جوانه جانبی و ۳ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین تعداد برگ با میانگین ۳/۴۳ عدد برگ در نوع درختچه زرشک دانه دار در حالت داشتن تک جوانه جانبی و میزان صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP بود. بیشترین طول برگ با میانگین ۱۷/۳۷ میلی متر در نوع درختچه زرشک بیدانه در حالت داشتن تک جوانه جانبی و غلظت ۳ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین مقدار طول برگ با ۱۱/۷۵ میلی متر در نوع درختچه زرشک بیدانه در حالت داشتن دو جوانه جانبی و صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین مقدار عرض برگ با ۷/۸ میلی متر در نوع درختچه زرشک دانه دار در حالت داشتن دو جوانه جانبی و ۳ میلی گرم بر لیتر هورمون BAP و کمترین مقدار عرض برگ با ۴/۸۷ میلی متر در نوع درختچه زرشک بیدانه در حالت داشتن تک جوانه جانبی و صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین مقدار سطح برگ با ۸۶/۶۰ میلی مترمربع در نوع درختچه زرشک

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۵۷

جانبی و با غلظت صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد. بیشترین میزان شادابی در روز ۳۰ در نوع درختچه زرشک بیدانه، زینتی و دانه دار با تعداد دو جوانه جانبی و با غلظت صفر میلی گرم بر لیتر هورمون BAP مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سه گانه تعداد جوانه، نوع درختچه زرشک و هورمون BAP بر متغیرهای مورد

بررسی در زرشک

Table 3- Mean comparison of triple interaction effect of number of buds, type of barberry shrub and BAP hormone on the studied variables in barberry

میزان شادابی	وزن خشک	وزن تر برگها	نسبت عرض	سطح برگ	عرض برگ	طول برگ	تعداد برگ	اثر متقابل
BPA0-1-بیدانه	0.62 h	1.553 h	0.385 ih	40.124 g	4.875 h	12.625 f	3.875 fg	
BPA0-2-بیدانه	1.37 fg	3.418 fg	0.513 a	46.042 fg	6.000 f	11.75 f	7.458 c	
BPA1-1-بیدانه	1.33 fg	3.322 fg	0.44 def	67.981 cd	6.763 cde	15.375 bcd	4.875 fe	
BPA1-2-بیدانه	3.005 ab	7.512 ab	0.466 bcd	79.056 abc	7.5 abc	16.125	9.365 ab	
BPA2-1-بیدانه	1.503 fg	3.757 fg	0.4 gh	61.659 de	6.15 ef	15.375 bcd	6.135 d	
BPA2-2-بیدانه	2.203 cde	5.507 cde	0.363 i	61.844 de	5.875 fg	16.125	8.875 ab	
BPA3-1-بیدانه	1.838 def	4.598 def	0.436 def	85.659 ab	7.575 ab	17.375 a	5.344 de	
BPA3-2-بیدانه	2.995 ab	7.48 ab	0.433 def	74.776	6.975 bcd	16.25 abcd	9.792 a	
BPA0-1-دانه دار	0.587 h	1.465 h	0.415 g-f	42.624 g	5.213 gh	12.563 f	3.438 g	
BPA0-2-دانه دار	1.492 fg	3.727 fg	0.443 c-f	49.737 efg	5.813 fg	13.125 ef	7.479 c	
BPA1-1-دانه دار	1.178 fgh	2.943 fgh	0.492 ab	67.393 cd	7.081 abc	14.438 ed	4.354 feg	
BPA1-2-دانه دار	2.475 bcd	6.185 bcd	0.42 e-g	70.867 bcd	6.75 cde	16.063	8.661 b	
BPA2-1-دانه دار	1.187 fgh	2.968 fgh	0.435 def	59.762 def	6.313 def	14.563 ecd	4.922 fe	
BPA2-2-دانه دار	2.777 abc	6.94 abc	0.447 c-f	78.585 abc	7.35 abc	16.438 abc	8.854 ab	
BPA3-1-دانه دار	1.417 fg	3.543 fg	0.436 def	72.161	6.938 bcd	15.938	4.943 fe	
BPA3-2-دانه دار	3.05 ab	7.622 ab	0.464 b-d	85.694 ab	7.8۰۰ a	16.875 ab	8.813 ab	
BPA0-1-زینتی	0.863 gh	2.165 gh	0.45 c-f	48.723 efg	5.806 gf	12.906 ef	4.427 feg	
BPA0-2-زینتی	1.475 fg	3.687 fg	0.478 bc	49.929 efg	5.969 f	12.563 f	7.198 c	
BPA1-1-زینتی	1.35 fg	3.373 fg	0.463 bcd	78.234 abc	7.428 abc	16.094	4.219 feg	
BPA1-2-زینتی	2.943 ab	7.358 ab	0.454 cde	79.374 abc	7.375 abc	16.406 abc	8.987 ab	
BPA2-1-زینتی	1.547 efg	3.87 efg	0.446 c-f	86.605 a	7.694 ab	17.281 ab	4.471 feg	
BPA2-2-زینتی	2.837 abc	7.093 abc	0.454 cde	80.228 abc	7.463 abc	16.469 ab	8.719 ab	
BPA3-1-زینتی	1.602 efg	4.002 efg	0.454 cde	83.743 ab	7.644 ab	16.844 ab	4.773 fe	
BPA3-2-زینتی	3.355 a	8.393 a	0.452 cde	84.326 ab	7.638 ab	16.938 ab	9.823 a	

ns* و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1% level, respectively

ضریب همبستگی (جدول ۴) نشان داد بین عرض و طول برگ (r=0.83**) ، بین طول و سطح برگ (r=0.95**) ، بین عرض و سطح برگ (r=0.96**) ، بین وزن تر برگ با تعداد برگ (r=0.87**) ، بین وزن تر برگ با طول برگ (r=0.72**) ، بین وزن خشک برگ با طول برگ (r=0.86**) ، بین وزن خشک برگ با عرض برگ (r=0.78**) ، بین وزن خشک برگ با سطح برگ (r=0.72**) ، بین وزن خشک برگ با وزن تر برگ (r=0.76**) ، بین میزان شادابی در روز ۳۰ با طول برگ (r=0.95**)

برگ (r=0.68**), بین میزان شادابی در روز ۳۰ با عرض برگ (r=0.61**), بین میزان شادابی در روز ۳۰ با سطح برگ (r=0.67**), بین میزان شادابی در روز ۳۰ با وزن تر برگ (r=0.57**) و بین میزان شادابی در روز ۳۰ با وزن خشک برگ (r=0.58**) مثبت و در سطح احتمال ۱٪ معنی دار بود.

جدول ۴- ضریب همبستگی بین صفات مورد بررسی در درختچه زرشک در شرایط درون شیشه ای تحت تاثیر نوع درختچه، تعداد جوانه و مقادیر هورمون BAP

Table 4- Correlation coefficient between research traits in barberry shrub under glass conditions that affects the type of shrub, number of buds and BAP hormone

متغیر	زمان سبز شدن	تعداد برگ	طول برگ	عرض برگ	سطح برگ	نسبت طول به عرض برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	میزان شادابی
زمان سبز شدن	1.00								
تعداد برگ	0.12	1.00							
طول برگ	.400**	.367**	1.00						
عرض برگ	.42**	.33**	.83**	1.00					
سطح برگ	.42**	.36**	.95**	.96**	1.00				
نسبت طول به عرض برگ	-0.05	0.17	-.23**	.35**	0.07	1.00			
وزن تر برگ	-0.10	.87**	.72**	.68**	.74**	0.10	1.00		
وزن خشک برگ	-0.10	.86**	.78**	.72**	.76**	0.16	0.95**	1.00	
میزان شادابی	-.44**	.39**	.68**	.61**	.67**	-0.06	.57**	.58**	1.00

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح ۵٪ و ۱٪.

ns, * and ** are not significant, significant at 5% and 1% level, respectively

فعالیت فتوسنتزی می گردد. با توجه به نتایج تحقیقات انجام شده در زرشک بیدانه بیان شده است که ممکن است نقص ژنتیکی در رابطه با واکنش به محرک های ریشه زایی در این گیاه وجود داشته باشد. در این رابطه سیستم های بسیار زیادی برای ایجاد نقص ژنتیکی در گیاهان مختلف مطرح شده است (نظری، ۱۳۹۲). در این تحقیق نیز شاید یکی از دلایل عدم تولید ریشه زایی به دلیل مذکور باشد. در تحقیقات دیگری نیز بیان

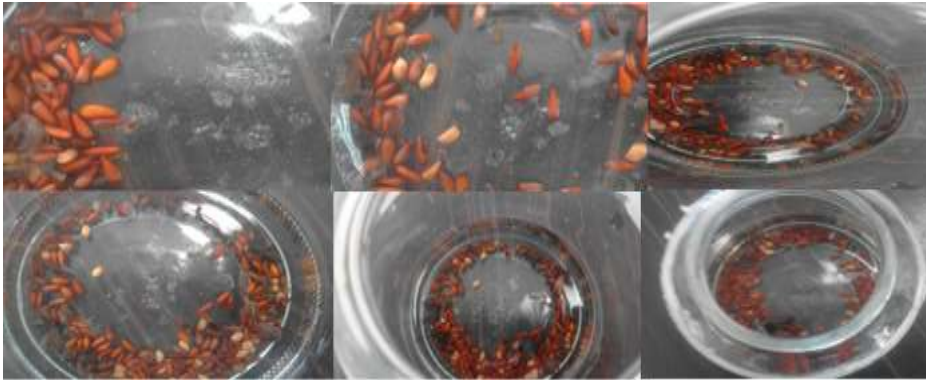
نظری و همکاران (۱۳۹۴) همبستگی مثبت و معنی داری بین عرض برگ با سطح برگ در سطح احتمال ۱ درصد گزارش نمود که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد. نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش طول و عرض برگ، سطح برگ افزایش می یابد که با نتایج نظری و همکاران (۱۳۹۴) همخوانی دارد. همچنین فلاحی و همکاران (۱۳۸۹) گزارش نمود که افزایش طول پهنک برگ باعث افزایش سطح برگ و افزایش

بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۵۹

روى، بر کاهش ترکیبات فنولى و قهوه اى شدن گزارش نمود. در تحقیقى (Jain and Bashir, 2010) غلظت ۱ میلی گرم در لیتر TDZ همراه با ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA را به عنوان بهترین تیمار باززایی پس از ۲۸ روز گزارش نمودن سپس به منظور ادامه رشد و پرآوری، شاخه ها در محیط کشت MS حاوی ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA بعلاوه ۰/۵ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک واکشت گزارش نمودند. بنابراین در بسیاری از موارد نتایج این تحقیق با نتایج سایر محققین همخوانی داشت. میرزایی و قادری (۱۴۰۲) در مطالعه عملکرد ریزنمونه جوانه انتهایی در یک آزمایش با استفاده از ۴ تیمار غلظت هورمون های BAP و IAA و NAA ریشه زایی زرشک را مورد بررسی قرار دادند و بیان نمودند بیشترین میزان افزایش صفات در کشت جوانه های انتهایی در غلظت کامل محیط کشت MS به همراه استفاده از غلظت ۲/۵ میلی گرم در لیتر از هورمون های BAP و ۰/۵ میلی گرم NAA تاثیر معنی داری را بر افزایش راندمان ریزازدیادی ریزنمونه نشان داد. در مقایسه عملکرد غلظت هورمون ریشه زایی استفاده از ۳ میلی گرم در لیتر IBA طی دو تیمار ریشه زایی در همراهی زغال فعال بیشترین درصد ریشه زایی را نشان داد، اما نتایج این تحقیق با نتایج میرزایی و قادری (۱۴۰۲) همخوانی نداشت. همچنین با توجه اینکه همچنان مشکل عدم ایجاد کالوس و تولید ریشه در زرشک بیدانه در کشت بافت باقی است لذا در این تحقیق بذر زرشک دانه دار که از منطقه شمال دامغان تهیه شده بود مورد کشت قرار گرفت که دارای جوانه زنی و سبز شدن مناسب در این تحقیق بود که ممکن است در آینده بعنوان یک راه حل برای تکثیر از طریق

شده است در قلمه زنی زرشک بیدانه، کالوس در زیر پوست تولید می شود که با متورم شدن و در نهایت شکافتن پوست همراه است اما این کالوس زایی موجب تولید ریشه نمی شود و یا ریشه های بسیار شکننده و ضعیفی ایجاد می گردد و به راحتی از تنه جدا می شوند. محمدی (۱۳۹۰) بیان نمود در رابطه با کشت بافت ساقه مشکل عدم ایجاد ریشه بسیار شدید و همچنان باقی است، زیرا در محل برش نمونه ها که قهوه اى می شود القای کالوس مشاهده نمی شود و در نهایت از بین می روند. در این تحقیق نیز نتایج مشابه اى بدست آمد، ولی تولید ریشه در نوع زینتی و دانه دار کمی مشاهده شد. مزگی نژاد (۱۳۹۷) در آزمایشی به بررسی زیست مانی درون شیشه اى کالوس های زرشک بیدانه پرداخت و در آزمایش اول ترکیب هورمونی مناسب برای القا و رشد کالوس از برگ زرشک بیدانه و محیط (MS/2+ 0.5 mg/l 2-4-D + 2 mg/l BAP) را بعنوان بهترین ترکیب هورمونی گزارش نمود. در آزمایش دیگری جهت تعیین محیط کشت بهینه زیست مانی دو هورمون BAP (۲ میلی گرم) و TDZ (۱۵ میلی مولار) بصورت جداگانه در ترکیب با هریک از عوامل متیل جاسمونات (۱ و ۲ میلی گرم)، نانو ذرات اکسید آهن (۱۰۰ppm و ۷۵) و نانو ذرات اکسید روی (۱۰۰ppm) و (۷۵) استفاده نمود در نهایت مشاهده ظاهری زیست مانی کالوس ها نشان داد، تیمارهای حاوی BAP نسبت به تیمارهای TDZ از نظر ظاهری، دارای زیست مانی بالاتری بودند. بطوری که زیست مانی در تیمار BAP نانو اکسید روی با غلظت (۷۵ppm) 100 درصد گزارش نمود. به طورکلی، ارزیابی کالوس ها بیانگر کارکرد بالای نانو ذرات، به خصوص نانو ذرات اکسید

پیوند زرشک بیدانه بر روی پایه دانه دار باشد (شکل ۵، ۶ و ۷).



شکل ۵- قرار داد دانه زرشک دانه دار جهت جوانه زنی

Fig 5- Place grainy barberry seeds for germination



شکل ۶- قرار داد دانه زرشک دانه دار در محیط کشت بافت

Fig 6- Placement of grainy barberry seed in tissue culture medium



شکل ۷- سبز شدن زرشک دانه دار و ادامه رشد در شرایط طبیعی

Fig 7- Greening of grainy barberry and continued growth in natural conditions

وزن تر و خشک و شادابی در روز ۳۰ مشاهده شد و کمترین تعداد برگ، وزن تر و خشک و شادابی در روز ۳۰ در حالت تک جوانه و مقدار صفر میلی گرم

نتیجه گیری کلی

نتایج نشان داد که در حالت دو جوانه و سه میلی گرم هورمون BAP در زرشک زینتی بیشترین تعداد برگ،

- بررسی تاثیر تعداد جوانه جانبی، نوع درختچه زرشک و بنزیل آمینوپورین بر میزان رشد صفات فنوتیپی زرشک ۶۱
- هورمون BAP در زرشک دانه‌دار مشاهده شد. بنابراین، با توجه به موارد مذکور زرشک زیتنی عکس‌العمل بهتری نسبت به زرشک بیدانه و دانه‌دار به سطوح بالاتر هورمون BAP نشان داد و از سوی دیگر با توجه به اینکه در این تحقیق جوانه‌زنی و سبز شدن بذر در زرشک دانه‌دار نیز موارد بررسی قرار گرفت که بسیار موفق‌آمیز بود. به عنوان یک راه حل برای حل مشکل تکثیر زرشک بیدانه می‌توان از بذر زرشک دانه‌دار برای تکثیر استفاده نمود و سپس با پیوند زرشک بیدانه روی پایه زرشک دانه‌دار به تولید انبوه زرشک بیدانه می‌توان پرداخت
- تشکر**
- با توجه به تامین هزینه مالی این تحقیق توسط دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان از، ریاست محترم این واحد دانشگاهی تشکر می‌گردد.
- منابع**
- ۱) آمارنامه کشاورزی. ۱۳۹۸. جلد سوم محصولات باغی.
- ۲) بالندری، ا. و م، کافی. ۱۳۸۱. زرشک فناوری تولید و فرآوری. چاپ اول، انتشارات زبان و ادب مشهد.
- ۳) بالندری، ا. و م، زیارت‌نیا. ۱۳۸۱. بررسی امکان تکثیر زرشک بیدانه به روش کشت بافت و ریشه زایی قلمه‌ها. سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران- مرکز خراسان.
- ۴) حاجی زاده خنامانی، ر. ۱۳۹۵. تأثیر عوامل مختلف بر القاء کالوس در زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris L.*) پایان نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات. دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.
- ۵) رحیمیان، ح. و م، بنیان. ۱۳۷۵. مبانی فیزیولوژیکی اصلاح نباتات (ترجمه) انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد.
- ۶) زیارت‌نیا، م. و ا، سلمانی. ۱۳۹۱. اثر تنظیم‌کننده‌های رشد بر القای کالوس در زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris var. asperma*). سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی)، مشهد. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۷) سادسی، ک. ۱۳۹۸. بهینه‌سازی ریز ازدیادی گیاه زرشک خراسانی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم انسانی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علم و هنر وابسته به جهاد دانشگاهی.
- ۸) سازمند، م.، صفرنژاد، ع.، رفیعی، ف. و ب، علمداری. ۱۳۹۱. اثر هورمون‌های تنظیم‌کننده رشد بر باززایی مستقیم در زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris var. asperma*) در شرایط این ویترو. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی). مشهد. دانشگاه فردوسی مشهد.
- ۹) سازمند، م.، صفرنژاد، ع.، رفیعی، ف. و ب، علمداری. ۱۳۹۱. بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف هورمون‌های رشد گیاهی بر کالوس‌زایی گیاه زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris L.*). همایش ملی محیط زیست و تولیدات گیاهی. سمنان. دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنان.

- (۱۰) سازمند، م. و ع، صفرنژاد. ۱۳۹۵. القای کالوس و پرآوری زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris L.*) در شرایط درون شیشه ای. فصلنامه علمی و پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران، ۲۴ (۱): ۱۰۱-۹۲.
- (۱۱) سلامی، م. ۱۳۹۳. تکثیر زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris L.*) به روش کشت بافت. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- (۱۲) فلاحی، ج.، رضوانی مقدم، پ. و م، نصیری محلاتی. ۱۳۸۹. اثر تاریخ برداشت و شاخص های کمی و کیفی میوه زرشک بیدانه. مجله پژوهش های زراعی ایران، ۸ (۲): ۲۲۵-۲۳۴.
- (۱۳) لایی، ق.، لایی، ر. و ح، افشاری. ۱۳۸۷. کاشت زرشک بیدانه در جهت مقابله با بحران خشکی و کم آبی. نخستین همایش ملی زعفران و زرشک، دانشگاه آزاد اسلامی قاینات.
- (۱۴) منیعی، ع. ۱۳۶۹. مبانی پرورش درختان میوه. انتشارات فنی ایان.
- (۱۵) محمدی، م. ۱۳۹۰. کشت این ویتروی زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris var. asperma*). پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.
- (۱۶) مزگی نژاد، ز. ۱۳۹۷. بررسی زیست مانی درون شیشه ای کالوس های زرشک بیدانه (*Berberis vulgaris L.*) پایان نامه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات. دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند.
- (۱۷) میرزایی، ل. و ه، قادری. ۱۴۰۲. ریز ازدیادی گیاه داروئی زرشک با روش کشت بافت. دومین همایش ملی چالش های فراوری تکمیل زنجیره ی ارزش گیاهان دارویی و معطر، ارومیه.
- (۱۸) نظری، ع. ۱۳۹۲. بررسی رابطه ارتفاع از سطح دریا با صفات کمی و کیفی در گونه های وحشی زرشک دانه دار در شاهرود. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته باغبانی. دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد دامغان.
- (۱۹) نظری، ع. ر.، افشاری، ح.، سینکی، ج. م.، باقری؛ س. و ق، لایی. ۱۳۹۴. رابطه ارتفاع از سطح دریا با صفات فیزیولوژیکی اکوتیپ های وحشی زرشک دانه دار (*Berberis vulgaris L.*) در منطقه شاهرود. مجله به زراعی نهال و بذر، ۱ (۲): ۱۱۹-۱۲۶.
- (۲۰) نظری مقدم آقایی، ر.، عابدی، ب.، بالندری، ا.، سمیعی، ل. و ع، تهرانی فر. ۱۳۹۸. کنترل آلودگی در ریزازدیادی زرشک بیدانه ایرانی. مجله فیزیولوژی و پرورش گیاهان، ۹ (۱): ۹۷-۱۱۰.
- 21) Arayne, M.S., Sultana, N. and S.S, Bahadur. 2007. The Berberis Story: *Berberis vulgaris* in Therapeutics. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 20: 83-92.
- 22) Arena, M. E., Pastur, G. M. and G, Vater. 2000. In vitro propagation of *Berberis buxifolia* Lam. *Biocell*, 24:73-80.
- 23) Fathollahzadeh, H., Mobli, H., Jafari, A., Rajabipour, A., Ahmadi, H. and A, Borghei. 2008. Effect of moisture content on some physical properties of barberry. *American-Eurasian Journal Agricultural and Enviromantal Sciences*, 3: 789-794.
- 24) Jain, A.K. and M, Bashir. 2010. In-Vitro Propagation of a Medicinal Plant *Portulaca*

- grandiflora. Hook. *World Journal of Agricultural Sciences*, 6: 327-330.
- 25) Karhu, S.T. and K.L, Hakala. 1991. Micropropagation of berberis thunbergii. *Acta horticulturae*, 282: 119-120.
- 26) Karhu, S. and K, Hakala. 1990. Rooting in vitro of micropropagated barberry (*Berberis thunbergii*) shoots. *Ann. Agr. Fenn*, 29:179-185.
- 27) Knox, G.W. and D.F, Hamilton. 1982. Rooting of Berberis and ligustrum cuttings from stock plants grown at selected light intensities. *Scientia Horticulturae*, 16:85-90.
- 28) Lafferrie, J.E. and L. W.A, Ahrendt. 1977. transfer species and intraspecific taxa from mahonia to berberis. *Botanicheskii-Zhurnal*, 82: 95-99.
- 29) Molinar, F. J.R., Mackay, W.A., Wall, M.M. and M, Carenas. 1996. Micropropagation of agrita (berberis) trifoliata Moric Horticulturae Science, 31: 1030-1032.
- 30) Mackay, W.A., Molinar, Jr. F., Wall, M.M. and M, Cardenas. 1996. Micropropagation of agrita, Berberis trifoliata Moric. *Journal Horticulturae Science*, 31:1030-1032.
- 31) Shah, S.C. and H, Singh-Bhujwon. 1999. Rooting behaviour of berberis cuttings as influenced by plant growth regulators. *Progressive-Horticulture*, 31: 98-100.
- 32) Ziaratnia, M., and Salmani, A. 2012. Effect of growth regulators on callus induction seedless Berberis (*Berberis vulgaris* var asperam), Third National Conference on Agricultural Biotechnology in Mashhad.