دو فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۳، شماره ۱، صفحه ۴۸-۴۰ (۱۳۹۴)

اثرات تنظیم‌کننده‌های رشد بر باززایی درون شیشه‌ای گیاه عناب (*Ziziphus jujuba*)

عباس صفرنژاد

دانشیار، عضو هیئت علمی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی، مشهد

پست الکترونیک: Sebre14@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۰۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۹/۱۲

چکیده

گیاهان تیره عناب (Rhamnaceae) به صورت درخت یا درختچه شامل ۵۰ جنس و ۶۰۰ گونه هستند که بیشتر در اروپا و نواحی استوایی می‌رویند. میوه‌های عناب دارای خواص دارویی فراوانی می‌باشند. در این تحقیق اثر شرایط ضدعفونی، محیط کشت و تیمارهای مختلف هورمونی روی میزان آلودگی، باززایی، پرآوری و ریشه‌زایی عناب مطالعه شد. از جوانه‌های انتهایی و جانبی شاخه‌های تهیه شده از درختچه‌های عناب به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. برای سترون‌سازی نمونه‌ها از محلول ۰/۰۲ درصد کلرید جیوه به‌مدت ۳ دقیقه، اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۲ دقیقه و هیپوکلریت سدیم ۱/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد. از محیط کشت MS با ۶ نوع ترکیب هورمونی حاوی غلظت‌های مختلف IBA، IAA، TDZ، BA و BAP استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس میزان باززایی، اختلاف معنی‌داری را بین ترکیب‌های هورمونی مختلف نشان دادند. محیط کشت MS حاوی ۲ mgl^{-1} BAP + mgl^{-1} IBA ۰/۰۱ بیشترین میزان باززایی را به میزان ۹۶/۶ درصد نشان داد. البته بین تیمارهای مختلف هورمونی برای پرآوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین تیمار ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌عنوان بهترین تیمار ریشه‌زایی معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: عناب، ریزازدیادی، کشت بافت، باززایی.

مقدمه

اگرچه در ایران کشت عناب در بیشتر استان‌های کشور به‌صورت پراکنده دیده می‌شود ولی در استان خراسان جنوبی، اصفهان، گلستان، مازندران، فارس، یزد، همدان و قزوین حضور بیشتری دارد. درخت عناب به حالت نیمه‌خودرو پرورش یافته و تا ارتفاع ۲۰۰۰ متری در نواحی شمالی ایران، گرگان، گیلان و کاشمر وجود دارد (Zargari, 1993; Ghows, 2008).

بافت میوه عناب از لحاظ ویتامین‌ها به‌خصوص ویتامین C بسیار غنی است. واریته‌های عناب معمولاً ۳۰-۲۰ درصد مواد قندی، ۲/۱۹- ۰/۸ درصد پروتئین، ۰/۷۳- ۰/۴ درصد خاکستر و ۰/۳- ۰/۱ درصد چربی دارد. میوه عناب تازه ۷۶/۹ درصد رطوبت، ۱/۶ درصد پروتئین و ۲۰/۴ درصد قند دارد و معمولاً به‌صورت خشک شده مصرف می‌شود. رطوبت، قند، پروتئین خام و خاکستر در عناب خشک شده به‌ترتیب ۲۵/۷، ۶۰، ۴/۹ و ۴/۷ درصد است (Azarpajouh and Mokhtarian, 2005).

در بررسی‌هایی که توسط دیگران روی عناب انجام شد از محیط کشت Murashig و Skoog (1962) (MS) برای شاخه‌زایی استفاده شد که سیتوکینین‌های مختلف نظیر

تیدیازورون (TDZ)، بنزیل آمینو پورین (BAP) و کینتین بود. در این میان BAP با مقدار مصرف ۱/۸۷ میلی‌مول و ۹۳/۷۶ درصد بهترین نتیجه شاخه‌زایی را نشان داد. برای ریشه‌زایی از اکسین‌های مختلف استفاده شد که بهترین آن نفتالن استیک اسید (NAA) به مقدار ۲/۶۹ میلی‌مولار و درصد ریشه‌زایی ۸۰ درصد بود (Goyal *et al*., 2006).

در آزمایشی دیگر اثر ایندول استیک اسید، ایندول بوتیریک اسید و بنزیل آدنین (IBA, IAA و BA) روی تکثیر عناب بررسی شد. بهترین محیط کشت MS+BA+IBA بود که مقدار آنها به‌ترتیب ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر بود. بهترین دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد و شدت نور ۳۰۰۰-۲۰۰۰ لوکس و زمان روشنایی ۱۴ ساعت گزارش شد (Yan *et al*., 2007).

نتایج تحقیقی روی کشت بافت عناب نشان داده که محیط کشت MS به همراه ۵ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین محیط کشت برای شاخه‌زایی بوده است. برای ریشه‌زایی نیز از محیط کشت ½ MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA استفاده شده است (Shu-xin *et al*., 2007).

در مطالعه‌ای روی کشت بافت عناب، ریزنمونه‌ها در محیط کشت MS حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA یا ۱۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۵ میلی‌گرم در لیتر BA کشت شدند. بعد از کشت کالوس اولیه، کالوس ارگانوژنیک تولید شده و بعد از کشت این کالوس شاخه‌های نابجا ایجاد شدند و بعد از این‌که شاخه‌های نابجا به محیط کشت ½MS به همراه NAA ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر انتقال یافتند، تمام گیاهان رشد طولی خوبی داشتند (Abdel *et al*., 2012).

در بررسی دیگری که روی کالوس و باززایی شاخه نابجای عناب انجام شده است، نتایج نشان داد زمانی که از نمونه‌های جوان برگ‌های بین سومین و پنجمین گره، روی محیط کشت MS به‌علاوه ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، ۲ میلی‌گرم در لیتر 2,4-D و ۰/۵ میلی‌گرم نیترات نقره در تاریکی استفاده شده به ۹۵ درصد القاء کالوس منجر شده است. برای ریشه‌زایی از ۲۰ میلی‌گرم در لیتر زآتین و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA استفاده شده که به ۳۷/۳۴ درصد ریشه‌زایی منجر شد (Xia *et al*., 2012).

در بررسی کشت غیرمستقیم عناب زمانی که از ساکارز با غلظت ۳ درصد استفاده شد طول شاخه ۳/۰۲ سانتی‌متر و تعداد برگ‌ها ۱/۸ افزایش یافت (Al-Sulaiman, 2010). تکثیر درون شیشه‌ای عناب با قراردادن ریزنمونه‌ها بر روی محیط کشت MS همراه با ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر BA یا ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IAA (ایندول-۳- استیک اسید) و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر کینتین حاصل شد. ریشه‌زایی در محیط کشت MS همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد (Al-Sulaiman & Najeb, 2010). در تحقیقی Dai و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که BA (۰-۰/۱ mg/l)، IBA (۰/۵-۱/۵) و IAA به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر برای ریشه‌زایی شاخه‌های عناب چینی مناسب بودند. همچنین Feng (۲۰۱۰) نشان داد که ۹۵/۵۶٪ ریشه‌زایی روی محیط $\frac{1}{2}$MS حاوی ۲/۶۹ میکرومول NAA برای شاخه‌های عناب مشاهده شد.

با توجه به اهمیت بسیار زیاد عناب و نیاز به تکثیر سریع این گیاه ارزشمند، در این پژوهش تکثیر عناب به‌وسیله تکنیک کشت بافت مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی: ریزنمونه‌های لازم از جوانه‌های روی شاخه گیاه عناب از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان رضوی تهیه شد. شاخه‌های جدا شده از گیاه عناب ابتدا در آزمایشگاه به مدت ۲۰ دقیقه زیر آب جاری قرار داده شد و بعد چند قطره مایع ظرف‌شویی به آن اضافه شد. پس از چند دقیقه شاخه‌های عناب آبکشی شدند. برای ضدعفونی از تیمارهای مختلف ضدعفونی طبق جدول ۱ استفاده شد. بدین صورت که از کلرید جیوه، اتانول و وایتکس با درصدهای مختلف و زمان‌های متفاوت استفاده شد.

جدول ۱- تیمارهای مختلف ضدعفونی سطحی برای استقرار کشت‌های درون شیشه‌ای عناب

ردیف	تیمار ضدعفونی
۱	کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۳ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۷۰ ثانیه
۲	کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه
۳	وایتکس ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه
۴	کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۳ دقیقه + الکل ۷۰ درصد ۲ دقیقه + وایتکس ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه
۵	کلرید جیوه ۰/۰۲ درصد به مدت ۳ دقیقه + اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه + وایتکس ۱/۵ درصد ۱۵ دقیقه

ریزنمونه‌ها بعد از ضدعفونی در شرایط سترون به شیشه‌های حاوی محیط کشت MS به همراه هورمون‌های مختلف انتقال یافته و به اتاقک رشد انتقال داده شدند. ریزنمونه‌ها در اتاقک رشد، در دمای بین ۲۳ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و نور فلورسنت سفید با شدت تقریبی ۳۰ تا ۵۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه نگهداری شدند. به‌منظور بهینه کردن شرایط کشت و باززایی از انواع ترکیبات ذکر شده در جدول ۲ استفاده شد. ترکیبات هورمونی بر اساس گزارش‌های سایر محققان در مورد گیاه عناب انتخاب شد (Dai *et al.*, 2006, Shu-xin *et al.*, 2007 و Al-Sulaiman & Najeb, 2010).

جدول ۲- تیمارهای مختلف هورمونی برای شاخه‌زایی عناب

ردیف	ترکیب هورمونی
۱	۱mgl^{-1} BAP +۰/۵ mgl^{-1} IAA
۲	۲mgl^{-1} BAP +۰/۰۱ mgl^{-1} IBA
۳	۳mgl^{-1} BAP + ۰/۰۱ mgl^{-1} IBA
۴	۳mgl^{-1} BAP + ۰/۱mgl^{-1} IBA
۵	۴mgl^{-1} BAP+ ۰/۰۱mgl^{-1} IBA
۶	۴mgl^{-1} BAP+ ۰/۱mgl^{-1} IBA
۷	۲ mgl^{-1} BAP +/۰۲ mgl^{-1} IBA
۸	free hormone MS
۹	۱/۵ mgl^{-1} BAP +۰/۰۱ mgl^{-1} IBA
۱۰	۱/۵mgl^{-1} BAP + ۰/۱mgl^{-1} IAA

پرآوری: به‌منظور پرآوری شاخه‌های باززایی شده از محیط‌های کشت مخصوص پرآوری که در جدول ۳ ذکر شده است، استفاده شد. بدین منظور از غلظت‌های مختلف هورمون‌های IAA، BA، BAP، IBA و Kin استفاده شد. سپس تعداد شاخه‌های ایجاد شده در هر محیط یادداشت شد.

جدول ۳- تیمارهای مختلف هورمونی برای پرآوری گیاه عناب

ردیف	تیمار هورمونی
۱	۱ mgl^{-1} IBA + ۰/۵ mgl^{-1} IAA
۲	۰/۰۱ mgl^{-1} IBA + ۲ mgl^{-1} BAP
۳	۰/۰۱ mgl^{-1} IBA + ۳ mgl^{-1} BAP
۴	۳ mgl^{-1} BAP
۵	۰/۰۱mgl^{-1} IBA + ۰/۵ mgl^{-1} Kin + ۱ mgl^{-1} BAP

ریشه‌زایی: شاخساره‌های باززایی شده در محیط‌های مخصوص ریشه‌زایی مطابق جدول ۴ قرار داده شد. بدین منظور از محیط کشت پایه MS و MS و هورمون‌های IAA, IBA و NAA در غلظت‌های مختلف استفاده شد.

روش‌های آماری و تجزیه و تحلیل داده‌ها

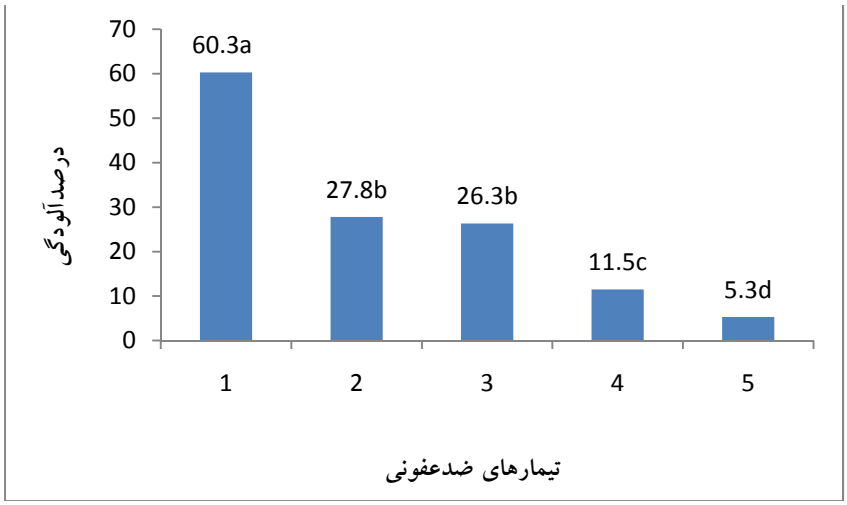
آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گردید. تجزیه آماری طرح و رسم نمودارها به‌ترتیب با استفاده از نرم‌افزار SAS و Excel انجام شد. مقایسه میانگین‌ها، با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن با احتمال ۵ درصد انجام شد.

جدول ۴- تیمارهای مختلف هورمونی برای ریشه‌زایی

ردیف	تیمار هورمونی
۱	۲mgl^{-1} IBA + MS
۲	۱ mgl^{-1} IAA + MS
۳	۱/۵ mgl^{-1} IAA + $\frac{1}{2}$ MS
۴	۰/۵ mgl^{-1} NAA + MS
۵	۵ mgl^{-1} IBA + MS

نتایج

ضدعفونی: نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تیمارهای ضدعفونی بر درصد آلودگی تفاوت معنی‌داری داشتند ($\alpha =$ ۰/۰۵). مقایسه میانگین‌ها بیانگر این بود که تیمار کلرید جیوه ۰/۰۲ درصد به‌مدت ۲ دقیقه + اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۲ دقیقه + وایتکس ۱/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه کمترین درصد آلودگی را داشته و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشتند (نمودار ۱).



نمودار ۱- اثر تیمارهای ضدعفونی بر درصد آلودگی

تیمارهای ضدعفونی به‌ترتیب عبارتند از:

۱-کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۳ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۷۰ ثانیه

۲-کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۵ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه

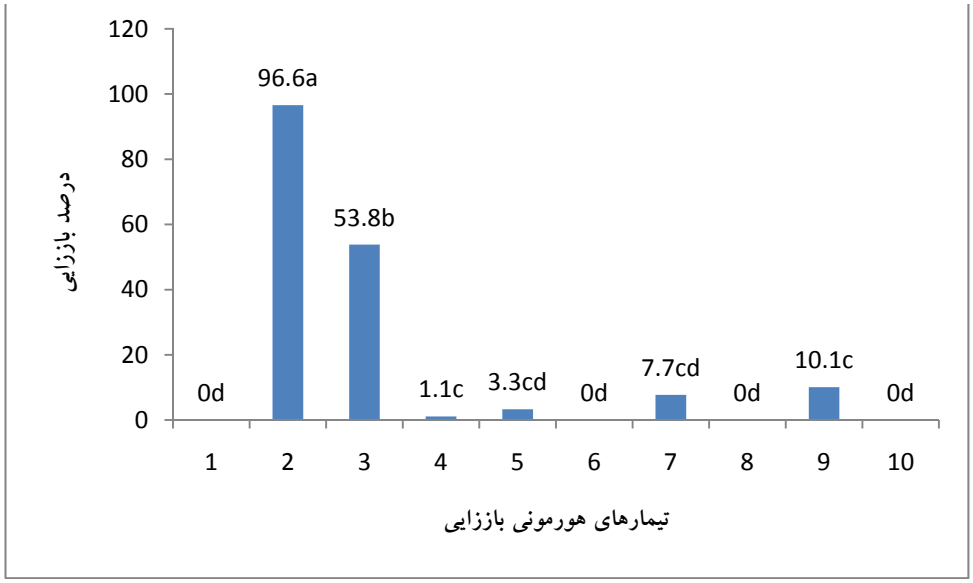
۳-وایتکس ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه + الکل ۷۰ درصد به مدت ۳۰ ثانیه

۴-کلرید جیوه ۰/۱ درصد به مدت ۳ دقیقه + الکل ۷۰ درصد ۲ دقیقه + وایتکس ۱/۵ درصد به مدت ۱۵ دقیقه

۵- کلرید جیوه ۰/۰۲ درصد به مدت ۳ دقیقه + اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه + وایتکس ۱/۵ درصد ۱۵ دقیقه

باززایی

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس این مرحله نشان داد که بین تیمارهای باززایی، اختلاف معنی‌داری وجود داشت ($\alpha =$ ۰/۰۵) و مقایسه میانگین‌ها بیانگر این بود که محیط کشت MS حاوی ۰/۰۱ mgl^{-1} IBA + ۲ mgl^{-1} BAP بیشترین میزان باززایی را داشته و تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۱ و نمودار ۲).



نمودار ۲- مقایسه اثر محیط کشت بر درصد باززایی

تیمارهای هورمونی باززایی به‌ترتیب عبارتند از: ۱- mgl^{-1} IAA ۰/۵+ mgl^{-1} BAP ۱، ۲- mgl^{-1} IBA ۰/۰۱+ mgl^{-1} BAP ۲، ۳- mgl^{-1} IBA ۰/۰۱ mgl^{-1} BAP ۳، ۴- mgl^{-1} IBA ۰/۱+ mgl^{-1} BAP ۳، ۵- mgl^{-1} IBA ۰/۰۱+ mgl^{-1} BAP ۴، ۶- mgl^{-1} IBA ۰/۱+ mgl^{-1} BAP ۴، ۷- mgl^{-1} IBA ۰/۰۲+ mgl^{-1} BAP ۱/۵، ۸- Ms hormone – free ۲، ۹- mgl^{-1} IBA ۰/۰۱+ mgl^{-1} BAP ۱/۵، ۱۰- mgl^{-1} IAA ۰/۱+ mgl^{-1} BAP ۱/۵

شکل ۱- استقرار و رشد شاخساره عناب در محیط کشت **۰/۰۱ mgl^{-1} IBA + ۲ mgl^{-1} BAP**

پرآوری: به‌منظور پرآوری و افزایش تعداد شاخه، جوانه‌های باززایی شده در محیط کشت مخصوص پرآوری شدند. پس از یک ماه تکثیر انجام گردید. واکشت‌های متوالی در همان محیط‌ها به‌منظور تکثیر بیشتر انجام شد (شکل ۲).

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که بین تیمارهای پرآوری هیچگونه اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (α =۰/۰۵). از نظر گروه‌بندی همه تیمارها در یک گروه قرار گرفتند و از نظر آماری اختلاف معنی‌داری نداشتند.

شکل ۲- پرآوری گیاه عناب در محیط کشت $2\ mgl^{-1}$ BA +۰/۰۱ mgl^{-1} IBA

ریشه‌زایی: شاخساره‌های تکثیر شده به‌منظور تولید ریشه به محیط‌های ریشه‌زایی منتقل شدند. پس از حدود دو ماه از ۵ تیماری که برای ریشه‌زایی مورد استفاده قرار گرفت، تنها تیمار مناسب محیط کشت IBA+MS 5 mgl-1 بود و در محیط‌های دیگر ریشه تولید نشد (شکل ۳).

شکل ۳- ریشه‌زایی شاخساره‌های درون شیشه‌ای عناب بر روی محیط کشت MS دارای $5\ mgl^{-1}$IBA

بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تیمار ضدعفونی کلرید جیوه ۰/۰۲ درصد به‌مدت ۲ دقیقه، اتانول ۷۰ درصد به‌مدت ۲ دقیقه و وایتکس ۱/۵ درصد به‌مدت ۱۵ دقیقه بهترین تیمار برای ضدعفونی ریزنمونه‌های عناب می‌باشد. همانند نتایج حاصل از پژوهش حاضر هانگ و همکاران (۲۰۰۶) روش های ضد عفونی‌کردن ریزنمونه‌های عناب (*Ziziphus jujube*) را بررسی کردند و نشان دادند که الکل و کلرید جیوه برای ضدعفونی ریزنمونه‌های عناب مناسب است. در همین رابطه عنوان شد که استفاده از الکل اتیلیک ۷۰٪ باعث می‌شود لایه مومی سطح کوتیکول حذف شده و محلول ضدعفونی کننده اصلی قدرت نفوذ و تأثیر بهتری بر بافت نمونه‌ها داشته باشد (Harum, 2013).

نتایج نشان داد که بیشترین باززایی در محیط MS دارای ۲mgl^{-1} BAP + ۰/۰۱ mgl^{-1}IBA می‌باشد. البته نقش و اثر BAP در شکستن غالبیت انتهایی و تحریک رشد شاخه‌های جدید است، بنابراین با افزایش غلظت BAP در محیط شاخساره‌های بیشتر اما کوتاه‌تری تولید می‌شوند. هورمون بنزیل آدنین باعث القای شاخه‌زایی می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که هورمون BAP با غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر بیشترین اثر را بر شاخه‌زایی داشت. یکی از پارامترهایی که در تکنیک کشت بافت اهمیت دارد مسئله تولید شاخه جانبی می‌باشد، زیرا در مرحله واکشت نمونه‌ها، شاخه‌های جانبی تولید شده را می‌توان جدا کرد و هر یک را به‌عنوان یک نمونه در محیطی جداگانه کشت کرد. حتی در برخی موارد که رشد شاخساره‌ها قوی باشد از هر شاخساره می‌توان چندین ریزنمونه تهیه کرد و با این کار

سرعت تکثیر بسیار افزایش می‌یابد. برخلاف نتایج بدست آمده از تحقیق حاضر که در غلظت‌های بالاتر نتایج بهتری در رابطه با شاخه‌زایی بدست آمد. در این زمینه AL-Sulaiman و همکاران (۲۰۱۰) تکثیر درون شیشه‌ای گونه *Z.spina-christi* را با استفاده از کشت جوانه انتهایی مورد بررسی قرار دادند. نتایج آنان نشان داد که 0/01 mgl^{-1} NAA + 0/1 mgl^{-1} BA + 0/1 mgl^{-1} IAA + mgl^{-1} kinetin بیشترین شاخه‌زایی را داشت. آنان گزارش کردند که مقادیر کم سیتوکنین‌ها برای شاخه‌زایی عناب مناسب است. همچنین Fougat و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که بهترین محیط برای شاخه‌زایی *Z.mauritiana* محیط کشت MS همراه با 0/025 mgl^{-1}NAA + 1 mgl^{-1} BA می‌باشد. آنان مقادیر زیاد BA را مناسب دانستند که با یافته‌های این تحقیق مطابقت دارد. در همین رابطه Dai و همکاران (۲۰۰۶) نیز در کشت بافت عناب چینی عنوان کردند که غلظت‌های بالای BA همراه با غلظت‌های کم IBA برای آغاز شاخه‌زایی از جوانه‌های انتهایی و جانبی مناسب می‌باشد. در ضمن Sudhersan و همکاران (۲۰۰۱) نیز از غلظت‌های کم BA برای شاخه‌زایی *Z. spina-christi*(m) Desf استفاده کردند. در حالیکه Assareh و Sardabi (۲۰۰۵) نشان دادند که در کشت بافت عناب محیط کشت DKW برای شاخه‌زایی مناسب‌تر از محیط کشت MS می‌باشد که با نتایج بدست آمده در این آزمایش مغایرت دارد. با وجود نتایج حاصل از این تحقیق گزارش Al-Sulaiman (۲۰۱۰) نشان داد که غلظت‌های کم سیتوکنین‌ها برای پرآوری عناب مناسب می‌باشد.

هورمون اکسین در گیاهان معمولا باعث تحریک ریشه‌زایی و جلوگیری از ایجاد شاخه‌های جانبی می‌شود. یکی از متداول‌ترین اکسین‌ها در کشت بافت گیاهی هورمون IBA می‌باشد. در تحقیق حاضر نیز نتایج نشان داد که بهترین محیط ریشه‌زایی محیط MS حاوی ۵ میلی‌گرم در لیتر IBA می‌باشد. در همین رابطه Mathur و همکاران (۱۹۹۳) گزارش کردند که شاخه‌های حاصل از کشت این‌ویترو در محیط حاوی IBA ریشه‌دار شدند که با یافته‌های این آزمایش مطابقت داشت. در بررسی‌های Sudhersan و همکاران (۲۰۰۱) گزارش کردند که آغاز ریشه‌زایی تنها در محیط حاوی ۱۰ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده شد و درصد ریشه‌زایی هم ۳۰ درصد بود و غلظت بالای این اکسین را برای ریشه‌زایی مناسب دانستند که یافته‌های این تحقیق را تأیید می‌کند. اما Assareh و Sardabi (۲۰۰۵) محیط حاوی هورمون‌های IAA و 4-CPA را برای ریشه‌زایی مناسب ذکر کردند. در حالیکه Al-Sulaiman و Najeb (۲۰۱۰) گزارش کردند که محیط MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA برای ریشه‌زایی عناب مناسب می‌باشد.

بطور کلی محیط کشت MS حاوی ۲ mgl^{-1} BAP + ۰/۰۱ mgl^{-1} IBA بیشترین میزان باززایی را به میزان ۹۶/۶ درصد نشان داد. البته بین تیمارهای مختلف هورمونی برای پرآوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. همچنین تیمار ۵ میلی گرم در لیتر IBA به‌عنوان بهترین تیمار ریشه‌زایی معرفی شد.

منابع مورد استفاده

-Abdel Ibrahim, L., Abbas Mehdi, J. and Muayed Fadhil, A., 2012. *In vitro* plant regeneration of Indian jujube (*Ziziphus mauritiana* lamk) cv. Zaytoni via in direct organogenesis. Acta Agriculturae Slovenica, 99: 65-67.

-Al-Sulaiman, M., 2010. Clonal propagation of (*Ziziphus spina-christi*) by shoot tip culture:.Improved inorganic and organic media constituents for *in vitro* shoot multiplication. Enviroment &Aridland Agriculture, 21:3-17.

-Al-Sulaiman, M.H. and Najeb, M., 2010. *In vitro* shoot multiplication of *Ziziphus spina-christi* by shoot tip culture:. African Journal of Biotechnology, 9: 850-857.

–Assareh, M.H. and Sardabi, H., 2005. Macropropagation and micropropagation of *Ziziphus spina-christi*. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 40: 459-465.

-Azarpajouh, A. and Mokhtarian, A., 2005. Assessment of suitable time for harvest, processing and packaging of jujube fruit. Pajouhesh and Sazandegi, 74: 193-199.

Zizphus and silvernitrate and nutrient requirements for callus morphogenesis. Gartenbauwissenchaft, 58: 255-260.

-Murashig, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiology Plant, 15: 473-497.

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

-Sudhersan, C., Aboel-Nil, M. and Hussain, J., 2001. *In vitro* propagation of *Ziziphus mauritiana* cultivar Umran by shoot tip and nodal multiplication. Current Science, 80: 290-292.

-Xia, Y., Feng, J. Chen, Y., Li, J., Yu, X. and Zheng, X., 2012. Callus induction and adventitious shoot regeneration in (*Ziziphus jujuba*) Mill. Huizao. African Journal of Biotechnology, 11: 3888-3894.

-Yan, W. and Ksiksi, T., 2007. Studies on proliferation of (*Ziziphus jujuba*) zanhuang Dazao. Plant Biotechnology Reports, 1:179-184.

-Zargari, A., 1993. Medicinal Plants. Tehran University Publication. 690 pages.

-Dai, L., Zhao, J. and Liu, M.J., 2006. Tissue culture of Chines jujube using different explants. Plant Cell, Tissue Organ Culture, 72: 261-265.

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

-Fougat, R.S., Joginder, S., Tashlim, A., Arha, M.D., Godhani P.R., Singh, J. and Ahmed, T., 1997. *In vitro* studies in *Ziziphus mauritiana*. Journal Applied Horticulture, 3:45-49.

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

Ghows, K., 2008. Jujube, Forgotten fruit. South Khorasan Agricultural Organization. 200 pages.

–Harum, N., 2013. Surface sterilization procedures for leaves explants of rhododendron (*Rhododendron javanicum*) cultured *in vitro*. The Third Basic Science International Conference. B:21:1-421.

-Mathur, N., Ramawat, K.G. and Sonie, K.C., 1993. Plantlet regeneration from seedling explants of

Effects of growth regulators on *in vitro* regeneration of *Ziziphus jujube*

A. Safarnejad

Assoc. Prof., Faculty member of Razavi Khorasan Agricultural and Natural Resources Research Center, Mashhad, I.R.Iran,
Email: Sebre14@yahoo.com

Received: 31.03.2014 Accepted: 03.12.2014

Abstract

Ziziphus jujuba belongs to *Rhamnaceae* and consist 50 genus and 600 species that grow in European and tropical areas. Fruits of the species possess medicinal potentials. For propagation of *Z. jujuba* micropropagation was investigated. Various sterilization techniques, culture conditions, and different hormonal treatments on pollution, regeneration, proliferation and root induction were studied. Apical and axillary buds were used as explants. Buds were sterilized by 0.02% mercuric chloride for 3 min, 70% ethanol for 2 min and 30% NaOCl for 15 min. To evaluate the culture conditions, the explants were cultured on MS medium supplemented with different hormones such as IAA, BA, IBA and TDZ. Results indicated that MS basal medium supplemented with 0.01 mg/L IBA + 2 mg/L BAP was suitable to obtain shoots from axillary buds (96.9%). Apart from that, there was no significant differences ($p>0.05$) among the studied media for multiplication. Root induction from shoots was observed at concentration of 5 mg/L of IBA in MS medium.

Keywords: Jujube, micropropagation, tissue culture, regeneration