بهینه‌سازی دستورالعمل استقرار درون شیشه‌ای انجیر رقم سبز

محبوبه هداوندخانی[۱]، عباس یداللهی[۲*]، مسلم جعفری[۳]

[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران

[۲] دانشیار علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت‌مدرس، تهران، ایران

[۳] استادیار پژوهشی، عضو هیئت‌علمی ایستگاه تحقیقات انجیر استهبان، ایران

[*]نویسنده مسئول: yadollah@modares.ac.ir

چکیده

باتوجه‌به این‌که انجیر رقم سبز حجم زیادی از تولید انجیر سالیانه ایران را به خود اختصاص داده است، گسترش برنامه‌های درون شیشه‌ای برای دستیابی به یک پروتکل ریز ازدیادی با راندمان بالا جهت حفظ تولید پایدار این محصول ضروری است. در تکثیر درون شیشه‌ای انجیر، مرحله استقرار به دلیل وجود طیف گسترده‌ای از آلودگی‌های درونی، ترشح ترکیبات فنلی، و وجود مشکلات در رشد اولیه جوانه، مرحله بسیار مهمی است. هدف اصلی این مطالعه دستیابی به یک دستورالعمل موفقیت‌آمیز برای استقرار درون شیشه‌ای ریز نمونه‌های نوک شاخسار و تک گره درخت انجیر بالغ بود. برای دستیابی به بهترین محیط استقرار، آزمایشی با دو محیط پایه نمکی (MS, WPM) و دو تنظیم‌کننده رشد گیاهی به شرح زیر BA (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر) و NAA (۰، ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) انجام شد. نتایج نشان داد که ریز نمونه‌ها در محیط کشت MS (۱۰۰ درصد) در مقایسه با محیط کشت WPM (۸۳/۹۱ درصد) درصد استقرار بیش‌تری را نشان دادند، علاوه بر این، در میان تمام تیمارهای تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی، ترکیبی از ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA منجر به بالاترین درصد استقرار (۱۰۰ درصد) شد.

واژه‌های کلیدی: بنزیل آدنین، ترشحات فنلی، ریز ازدیادی، ریز نمونه، نفتالین استیک اسید

مقدمه

انجیر یکی از محصولات مهم خشکباری در ایران و جهان می‌باشد که دارای ارزش صادراتی بالایی می‌باشد. گزارش شده که امکان کشت دیم انجیر در مناطقی که دارای متوسط بارندگی سالیانه در حدود ۳۰۰–۲۷۰ میلی‌متر هستند وجود دارد (قاسمی و یداللهی، ۱۳۹۵). حدود ۹۰٪ تولید انجیر در جهان از نوع انجیر خشک می‌باشد انجیر خوراکی با نام علمی *(Ficus carica* L) گونه‌ای دیپلوئید (2n=2x=26) گیاهی خزان‌دار و نیمه‌گرمسیری، متعلق به خانواده توت سانان [۳۰]می‌باشد بر اساس آمار نامه کشاورزی ۱۳۹۸ میزان کل تولید انجیر کشور در سال زراعی ۱۳۹۸، ۹۶۲۷۴ تن گزارش شده که میزان تولید انجیر آبی و دیم به ترتیب ۵۴۳۹۰ و ۴۱۸۸۴ تن بوده است. میزان عملکرد انجیر آبی و دیم به ترتیب ۷۴۲۲ و ۱۰۱۴ کیلوگرم در هکتار گزارش شده است. در بین کشورهای تولیدکننده انجیر، بیش‌ترین تولید انجیر خشکباری مربوط به ایران است و دیگر کشورها اغلب تولید میوه تازه‌خوری را به خود اختصاص داده‌اند. ازدیاد طبیعی انجیر از طریق رویشی می‌باشد که باعث ایجاد مشکلات زیادی از جمله عوامل بیماری‌زا خواهد شد. تکنیک کشت بافت مقدمه‌ای در زیست‌فناوری بوده و افزایش و تولید انبوه گیاهان از طریق روش‌های مختلف کشت بافت گیاهی، یکی از مهم‌ترین و موفقیت‌آمیزترین کاربرد این روش است. در بسیاری از گونه‌های گیاهی تکنیک کشت بافت به‌عنوان یک روش ازدیاد به‌موازات روش‌های تکثیر غیرجنسی معمول کاربرد دارد. یکی از ویژگی‌های مهم این تکنیک در تولید هم‌گروه در مقایسه با روش‌های سنتی، کوتاه شدن زمان تکثیر و امکان انجام تکثیر در یک فضای محدود می‌باشد. همچنین این تکنیک روشی مناسب برای نگه‌داری منابع ژنتیکی گیاهی است (Pan and Van Staden, 1998). بنابراین برای تولید و تکثیر گیاهان سالم، یکنواخت و یک‌دست در یک مدت‌زمان کوتاه، استفاده از تکنیک‌های کشت بافت لازم است (Bagheri, 2002). باتوجه‌به نقش بسیار مهم تکنیک‌های ریز ازدیادی در تجاری‌سازی گیاهان، فراهم‌کردن یک

[30] Moraceae

روش مناسب و همچنین کارآمد برای باززایی کامل، سریع و همچنین تولید انبوه گیاه در شرایط درون شیشه‌ای یکی از اهداف بسیار مهم بررسی‌های کشت بافت است که می‌تواند یک بستر مناسب را برای انجام دیگر پژوهش‌ها، مانند مهندسی ژنتیک فراهم آورد. گزارش شده که در خصوص اولین مرحله ریز ازدیادی انجیر رقم بورسای سیاه غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده نمودند Günver *et al.*, (1998. صحرارو و همکاران، ۱۳۸۸، ۲۰۱۹، از غلظت‌های متفاوت (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA به همراه (۰ و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) NAA برای استقرار مریستم‌های دو رقم انجیر جامی‌کن و رقم سبز بکار بردند گزارش شده که برای اولین مرحله ریز ازدیادی دو رقم انجیر Conadria, Black Mission از محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده کردند نتایج رضایت‌بخشی را کسب نمودند (Taha *et al.*, 2013). در خصوص کشت درون شیشه‌ای انجیر رقم سبز تاکنون تحقیق زیادی صورت نگرفته است.

مواد و روش‌ها

تهیه ماده گیاهی

این پژوهش در سال ۱۳۹۸-۱۳۹۷ در آزمایشگاه ریز ازدیادی شماره ۳ دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت‌مدرس انجام شد. در این پژوهش نمونه‌گیری در فصل بهار انجام شد. برای تهیه ریز نمونه‌های مورداستفاده در این آزمایش، شاخه‌های حاصل از رشد جدید گیاهان به طول ۲۰-۱۵ سانتی‌متر از گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت‌مدرس جدا و به آزمایشگاه ریز ازدیادی شماره ۳ دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت‌مدرس منتقل شدند بعدازاین مرحله ابتدا تمامی برگ‌های شاخسارها و قطعات اضافی حذف شدند سپس شاخه‌ها به قطعات ۸-۵ سانتی‌متری تقسیم شدند. همچنین برای جلوگیری از انتقال عوامل آلوده‌کننده، قیچی باغبانی و اسکالپل مورداستفاده بعد از چند بار برش با استفاده از الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. بعد از آماده‌سازی نمونه‌ها. ریز نمونه‌ها برای رفع آلودگی‌های سطحی ابتدا به مدت ۶۰ دقیقه زیر آب جاری قرار گرفتند سپس در ادامه به‌منظور ضدعفونی به مدت ۲۰ دقیقه درون محلول آب و مایع ظرف‌شویی به میزان ۱۰ قطره خیسانده شده، سپس ۳ تا ۴ بار به‌دقت با آب جاری شسته شدند. در ادامه به مدت ۴۵ دقیقه در محلول ۲ در هزار کاپتان قرار گرفتند. بعدازاین مدت ۳ تا ۴ بار بافاصله زمانی مختلف توسط آب مقطر دو بار استریل شده شسته شدند و در نهایت ریز نمونه‌ها برای ادامه پروسه‌ی ضدعفونی به زیر لامینار انتقال داده شدند. قراردادن ریز نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه در الکل اتیلیک ۷۰ درصد و سپس با آب مقطر دو بار استریل شده سه دفعه شستشو داده شدند. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در محلول کلراکس ۵/۲۵ درصد قرار گرفتند مجدداً با آب مقطر دو بار استریل شده سه یا چهار بار بافاصله زمانی متفاوت با دقت شستشو داده شدند. بعد از شستشوی نمونه‌های گیاهی، جوانه‌های (انتهایی و جانبی) گیاهی به طول (۲ تا ۳ سانتی‌متر) به پتری دیش منتقل شدند. سپس به محیط کشت منتقل شدند.

محیط‌های کشت استفاده شده در این تحقیق شامل محیط (MS) و محیط کشت LIoyd and McCown's (WPM) بود. قبل از اضافه‌شدن آگار به محیط‌های کشت، pH محیط‌های کشت روی ۵/۸ تنظیم شد. محیط‌های کشت در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و مدت‌زمان ۲۰ دقیقه و فشار ۱/۵ اتمسفر استریل شدند. نمونه‌های گیاهی بعد از کشت بر روی محیط غذایی زیر نور ۲۵۰۰ لوکس و در ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگه‌داری شدند، دما در تمام ساعت شبانه‌روز حدود ۲±۲۵ درجه سلسیوس تنظیم شد.

در این تحقیق دو فاکتور مورد بررسی قرار گرفت:

فاکتور اول: بررسی اثر محیط‌های کشت MS و WPM.

فاکتور دوم: بررسی اثر دو نوع هورمون BA و NAA.

این تحقیق به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار و در هر تکرار سه ریز نمونه انجام شد. داده‌برداری بعد از گذشت چهار هفته از کشت صورت گرفت. در تعیین بهترین محیط کشت و ترکیب هورمونی در استقرار، شاخص‌های، درصد استقرار، طول شاخسار، تعداد برگ. مورد ارزیابی قرار گرفتند.

نتایج و بحث

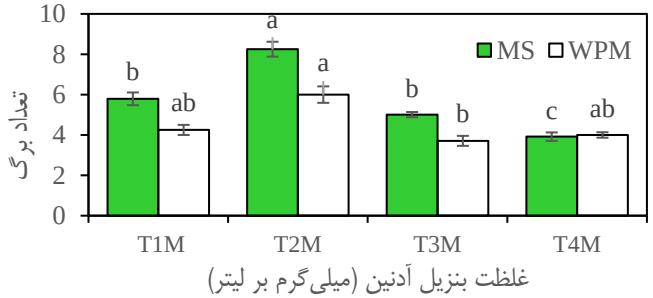
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در صفت تعداد برگ اثر محیط کشت و اثر اصلی BA و اثر اصلی NAA در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود. ولی اثر متقابل محیط کشت و BA و اثر متقابل محیط کشت و NAA و اثر متقابل BA و NAA در سطح احتمال ۵ ٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل محیط کشت و BA و NAA غیر معنی‌دار بود. در صفت طول شاخسار اثر محیط کشت، اثر اصلی BA، اثر متقابل محیط کشت و BA، اثر اصلی NAA و اثر متقابل محیط کشت و NAA در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود، اثر متقابل BA و NAA و اثر متقابل محیط کشت و BA و NAA غیر معنی‌دار بود. در صفت درصد بقاء نیز اثر اصلی محیط کشت و اثر اصلی BA، اثر متقابل BA و NAA و اثر متقابل محیط کشت و BA و NAA در سطح احتمال ۱ ٪ معنی‌دار بود. اثر متقابل محیط کشت و BA، اثر اصلی NAA و اثر متقابل محیط کشت و NAA غیر معنی‌دار بود (جدول ۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مدنظر تحت تأثیر غلظت‌های مختلف دو هورمون BA و NAA

		میانگین مربعات		
منبع تغییرات	درجه آزادی	تعداد برگ	طول شاخسار	درصد بقاء
Medium	۱	۳۵۱/۴۹**	۰۵۷/۴**	۷۸۴/۳۲۹۲**
BA	۳	۸۹۹/۳۰**	۰۶۶/۸**	۹۳۹/۳۵۰۷**
Medium*BA	۳	۴۹۲/۲*	۰۸۸/۱**	۱۰۴/۲۶۱^{ns}
NAA	۱	۹۴۵/۱۰**	۰/۸۹۰**	۵۸۷/۳۷^{ns}
Medium*NAA	۱	۰۶۷/۴*	۳۶۷/۱**	۹۵۲/۵۱^{ns}
BA*NAA	۳	۰۲۲/۲*	۲۰۵/۰^{ns}	۲۳۹/۵۷۲**
Medium*BA*NAA	۳	۲۲۷/۱^{ns}	۰۴۴/۰^{ns}	۷۴۵/۱۱۵۲**
خطا آزمایش	۴۸	۰/۶۸۸	۰/۱۱۴	۱۱۴/۷۲۰
ضریب تغییرات (٪)		۱۵/۰۰۲	۱۹/۳۷۰	۱۴/۷۹۰

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ ٪، * معنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪، ^{ns} غیر معنی‌دار.

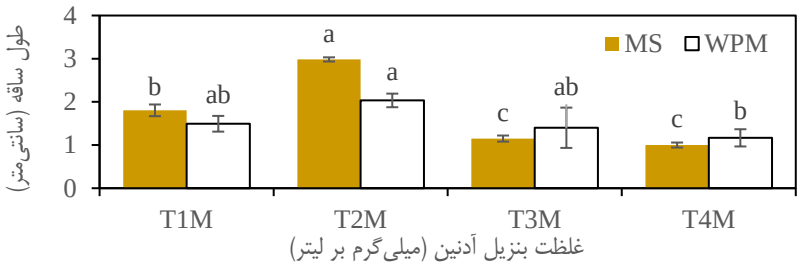
در این تحقیق، در تیمار TM چهار سطح مختلف BA (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) را مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در هر دو محیط کشت به‌کاررفته بهترین ترکیب هورمونی ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA بود. محیط کشت MS نسبت به محیط کشت WPM در هر سه شاخص مورد بررسی برتری داشت. نتایج نشان داد که در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA در هر دو محیط کشت بیش‌ترین تعداد برگ در این تیمار مشاهده شد. کم‌ترین تعداد برگ (۳/۹۲ عدد) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد. در محیط کشت WPM کم‌ترین تعداد برگ در تیمار شاهد و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد (شکل ۱).



شکل ۱- اثر متقابل دوگانه بین غلظت‌های مختلف BA و نوع محیط کشت بر تعداد برگ

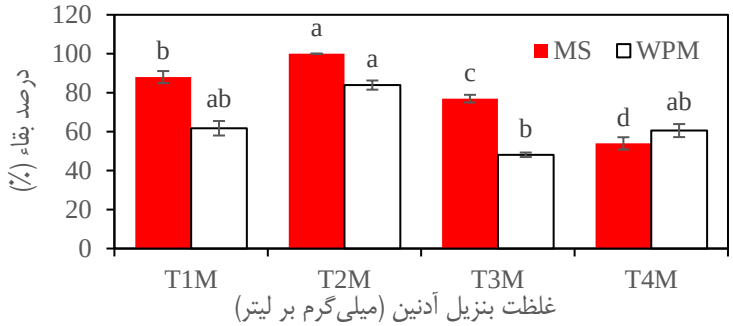
بیش‌ترین میزان طول شاخسار (۲/۹۸ سانتی‌متر) در محیط کشت MS در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر مشاهده شد کم‌ترین میزان طول شاخسار (۱/۱۵ و ۱ سانتی‌متر) به ترتیب در تیمار ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد. در محیط کشت WPM نیز بیش‌ترین

طول شاخسار (۲/۰۳ سانتی‌متر) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد، کم‌ترین میزان طول شاخسار (۱/۱۷ سانتی‌متر) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA مشاهده شد. با افزایش میزان BA طول شاخسار کاهش یافت (شکل ۲).



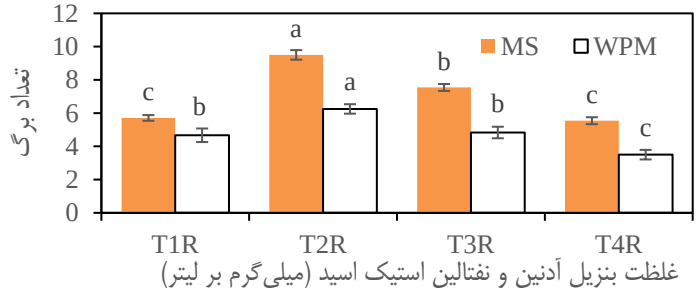
شکل ۲- اثر متقابل دوگانه بین غلظت‌های مختلف BA و نوع محیط کشت بر طول ساقه (سانتی‌متر)

در درصد بقاء نتایج نشان داد که در محیط کشت MS بیش‌ترین درصد بقاء (۱۰۰ درصد) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر کم‌ترین درصد بقاء (۵۳/۹۷ درصد) مشاهده شد. در محیط کشت WPM بیش‌ترین درصد بقاء (۸۳/۹۱ درصد) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. کم‌ترین درصد بقاء (۴۸/۱۳ درصد) در تیمار ۱ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. (شکل ۳). نتایج نشان داد که در هر سه صفت مورد بررسی محیط کشت MS نسبت به محیط کشت WPM برتری داشت.



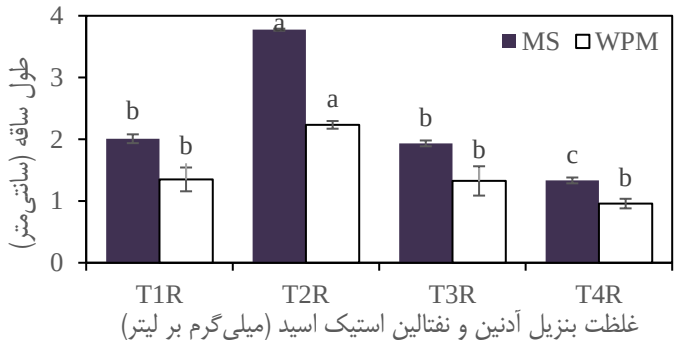
شکل ۳- اثر متقابل دوگانه بین غلظت‌های مختلف BA و نوع محیط بر درصد بقاء

در این تحقیق، در تیمار TR چهار سطح مختلف BA (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) و دو سطح (۰، ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) NAA مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA همراه با ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در هر دو محیط کشت بیش‌ترین تعداد برگ، طول ساقه و درصد بقاء ریز نمونه‌ها مشاهده شد. بیش‌ترین تعداد برگ در محیط کشت MS (۹/۵۰ عدد) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA و کم‌ترین تعداد برگ در تیمار (۵/۵۴ عدد) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA مشاهده شد در محیط کشت WPM بیش‌ترین (۶/۲۵ عدد) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA مشاهده شد. کم‌ترین تعداد برگ (۳/۵۰ عدد) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA مشاهده شد. نتایج نشان داد که با افزایش میزان BA و NAA تعداد برگ کاهش یافت. (شکل ۴).



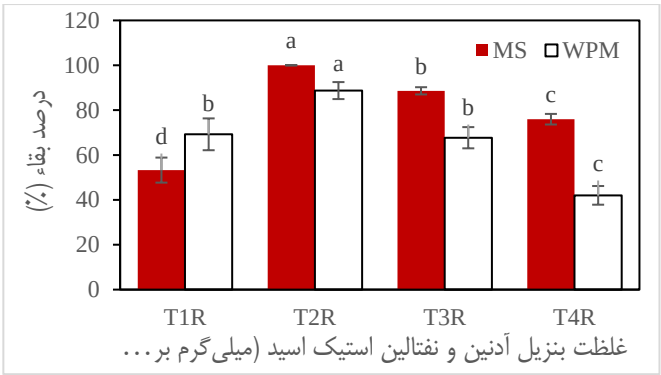
شکل ٤- اثر متقابل سه‌گانه غلظت‌های مختلف BA و NAA و نوع محیط بر تعداد برگ

بیش‌ترین طول شاخسار (۳/۷۸ سانتی‌متر) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA در محیط کشت MS مشاهده شد کم‌ترین طول شاخسار (۱/۳۳ سانتی‌متر) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر مشاهده شد. در محیط کشت WPM نیز بیش‌ترین طول شاخسار (۲/۲۳ سانتی‌متر) در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA مشاهده شد بین سایر تیمارها تفاوتی مشاهده نشد. نتایج نشان داد که، با افزایش میزان BA و NAA طول شاخسار کاهش یافت (شکل ۵).



شکل ۵- اثر متقابل سه‌گانه بین غلظت‌های مختلف BA و NAA و نوع محیط بر طول ساقه (سانتی‌متر)

در هر دو محیط کشت در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA بیش‌ترین درصد بقاء در این تیمار مشاهده شد. در محیط کشت MS کم‌ترین درصد بقاء (۵۳/۲۶ درصد) در تیمار شاهد مشاهده شد. در محیط کشت WPM کم‌ترین درصد بقاء (۴۲/۰۱ درصد) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم بر لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA مشاهده شد (شکل ۶).



شکل ٦- اثر متقابل بین غلظت‌های مختلف BA و NAA و نوع محیط کشت بر درصد بقاء (٪)

بحث

گزارش شده که در خصوص اولین مرحله ریز ازدیادی غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP به همراه ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر IBA را برای استقرار مریستم‌های انجیر رقم بورسای سیاه بکار بردند نتایج رضایت‌بخشی را کسب نمودند (Demiralay *et al.*,1997). این در حالی بود که Günver *et al.*, 1998 برای اولین مرحله ریز ازدیادی انجیر رقم بورسای سیاه غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA به همراه ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA استفاده نمودند. گرچه آزمایش آنان دررابطه‌با اثر زمان نمونه‌برداری بر درصد بقاء مریستم‌های جدا شده بود اما در هر سه زمان بکار رفته زنده‌مانی مریستم‌های کمتر از ۵۰ ٪ بود. این با آزمایش ما مبنی بر نیاز حضور تنظیم‌کننده‌های رشد به‌خصوص سیتوکینین در مرحله استقرار مطابقت داشت. با نتایج صحرارو و همکاران، ۱۳۸۸، ۲۰۱۹ که از غلظت‌های متفاوت (۰، ۰/۵، ۱، ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) BA به همراه (۰ و ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر) NAA برای استقرار مریستم‌های دو رقم انجیر جامی‌کن و رقم سبز بکار

بردند نتایج رضایت‌بخشی را کسب نمودند، حضور تنظیم‌کننده‌های رشد به‌خصوص سیتوکینین در مرحله استقرار را لازم دانستند مطابقت داشت. نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش بیانگر برتری محیط کشت MS نسبت به محیط کشت WPM بود به‌طوری‌که در بررسی خصوصیات مهم رشدی، این محیط دارای عملکرد بهتری بود. گزارش شده که برای اولین مرحله ریز ازدیادی دو رقم انجیر Conadria, Black Mission از محیط کشت MS همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP استفاده کردند. نتایج این محققان با نتایج این آزمایش مبنی بر نیاز به حضور تنظیم‌کننده‌های رشد به‌خصوص سیتوکینین در مرحله استقرار مطابقت داشت Taha *et al*., 2013. همچنین با نتایج به‌دست‌آمده توسط ساها و همکاران (۲۰۱۶) بر روی واریته S-1 توت سفید (*Morus alba* L. Variety-S-1)، گوگوی و همکاران (۲۰۱۷) بر روی توت هندی *Morus indica*، همچنین با نتایج ارون پانگ و چانگ (۲۰۱۵) بر روی توت مجنون (*M. alba* var shidareguwa) که در اولین مرحله ریز ازدیادی (مرحله استقرار) بهترین محیط کشت را محیط کشت MS، گزارش کرده‌اند، مطابقت داشت. علت رشد بهتر در محیط کشت MS نسبت به محیط کشت WPM به دلیل وجود مقادیر بالای نیتروژن به‌ویژه نیترات موجود در محیط کشت MS است که مقدار آن تقریباً چهار برابر محیط کشت WPM است (زارعی و همکاران،۱۳۹۲).

منابع

آمارنامه کشاورزی، ۱۳۹۸. جلد۳، سازمان جهاد کشاورزی.

زارعی، م. گروسی، ق. نظامی، ا. حسینی، ر. احمدی، ج. ۱۳۹۲. تأثیر محیط کشت، منبع کربن و طیف نور در نوساقه‌زایی و شیوه تیمار اکسین در ریشه‌زایی پایه رویشی Gisela6، مجله سلول و بافت.۴ (۲): ۱۸۵-۱۶۹.

صحرارو، ا. بابالار، م، عبادی، ع و کوهی حبیبی، م. ۱۳۸۸. ریز ازدیادی انجیر رقم جامی‌کن با استفاده از کشت مریستم، مجله غلوم باغبانی. ۴۰: ۹-۱.

قاسمی، م. یئاللهی، ع و قاسمی، ش. ۱۳۹۵. انجیر دیم کاشت، داشت و برداشت، انتشارات دانشگاه هرمزگان. ۱۲۵ صفحه.

Aroonpong, P., and Chang, J. C. 2015. Micropropagation of a difficult-to-root weeping mulberry (*Morus alba* var. shidareguwa): a popular variety for ornamental purposes. Scientia Horticulturae, 194: 320-326.

Bagheri, A. 2002. Tissue Culture Techniques, Mashhad: Ferdosi Universi Press.

Demiralay, A., Yalçin-Mendi, Y., Aka-Kaçar, Y. I. L. D. I. Z., and Cetiner, S. 1997. *In vitro* propagation of *Ficus carica* L. var. Bursa Siyahi through meristem culture. In I International Symposium on Fig, 480: 165-16.

Gogoi, G., Borua, P. K., and Al-Khayri, J. M. 2017. Improved micropropagation and *in vitro* fruiting of *Morus indica* L. (K-2 cultivar). Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 15(1): 249-256.

Günver, G., and Ertan, E. 1997. A study on the propagation of figs by the tissue culture techniques. In I International Symposium on Fig, 480: 169-172.

Pan, M. J., and Van Staden, J. 1998. The use of charcoal in *in vitro* culture–A review. Plant growth regulation, 26(3): 155-163.

Taha, R. A., Mustafa, N. S., and Hassan, S. A. 2013. Protocol for micropropagation of two *Ficus carica* cultivars. World Journal of Agricultural Sciences, 9(5): 383-388.

Saha, S., Adhikari, S., Dey, T., and Ghosh, P. 2016. RAPD and ISSR based evaluation of genetic stability of micropropagated plantlets of *Morus alba* L. variety S-1. Meta gene, 7: 7-15.

Sahraroo, A., Zarei, A., and Babalar, M. 2019. *In vitro* regeneration of the isolated shoot apical meristem of two commercial fig cultivars 'Sabz'and 'Jaami-e-Kan'. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 17: 743-749.

Optimization a protocol for in vitro establishment of *ficus carica* L. cultivar Sabz

Mahboube hadavand khani[1], Abbas yadollahi[2*], Moslem jafari[3]
[1]. MSc student, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[2]. Associate Professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran
[3]. Fig Research Station, Fars Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural
Research, Education and Extension Organization (AREEO), Estahban, I. R. Iran
Correspondence: yadollah@modares.ac.ir*

Abstract

Considering that the fig cultivar Sabz has devoted a large volume of Iranian fig production to itself, the extensive *in vitro* programs to achieve a high-performance micropropagation protocol are necessary for sustainable production. The establishment phase is crucial for fig in vitro propagation due to a wide range of endophytic contaminations, phenolic compound secretion, and difficulties in bud-break and initial growth. The main objective of this study was to achieve a successful in vitro establishing of shoot tip and single node explants of the mature fig tree. To attain the best establishment medium, an experiment was conducted with two basal salt media (MS and WPM) and a combination of two plant growth regulators as follows: BA (0, 0.5, 1, 1.5 mg/l) and NAA (0 and 0.1 mg/). The results revealed that the MS medium displayed a significantly more significant percentage of successfully established explants (100%) compared with the WPM medium (83.91 %). In addition, among all PGR treatments, a combination of 0.5 mg/l BA and 0.1 mg/l NAA gave rise to the highest explant establishment percentage (100%).

Keywords: Benzyl adenine, Micropropagation, Explants, phenolic compound, Naphthalene acetic Acid