DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrfpbgr.2012.6565

دو فصلنامهٔ علمی-پژوهشی تحقیقات ژنتیک و اصلاح گیاهان مرتعی و جنگلی ایران
جلد ۲۰، شمارهٔ ۱، صفحهٔ ۹۶-۸۳ (۱۳۹۱)

# تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد مختلف، محیط‌های کشت، مواد ژله‌ای کننده محیط کشت و منابع کربوهیدرات بر افزونش شاخساره در *Pyrus glabra* Boiss.

**یوسف علی سعادت*[۱]، ام‌البنین راستی[۲] و جواد زمانی[۳]**

۱*- نویسنده مسئول مکاتبات، استادیار پژوهش، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس
پست الکترونیک: شیرازsaadat@farsagres.ir
۲- کارشناس‌ارشد، بیوتکنولوژی کشاورزی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس
۳- کارشناس‌ارشد، باغبانی، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس

تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۰۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۰٤/۱۱

## چکیده

استان فارس یکی از رویشگاه‌های طبیعی گلابی وحشی گونه‌ی *Pyrus glabra* Boiss. می‌باشد. برداشت میوه، چرای بی‌رویه عرصه‌های جنگلی، تخریب جنگل‌ها و توسعه کشاورزی در سال‌های اخیر به شدت جنگل‌های گلابی وحشی استان فارس را تهدید و زادآوری طبیعی این گونه را مختل نموده است. برای احیای جنگل‌های *P. glabra* ضرورت دارد که تکثیر این گونه‌ی ارزشمند مورد بررسی قرار گیرد. این پژوهش به منظور مطالعه تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد، محیط‌های کشت، مواد ژله‌ای کننده محیط کشت و منابع مختلف کربوهیدرات در تکثیر شاخساره *P. glabra* در کشت‌های درون شیشه‌ای انجام گردید. از نوک شاخساره و قطعه‌های ساقه تولید شده درون شیشه با منشأ بذر یا درختان بالغ به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. میزان ۰/۸ تا ۱ میلی‌گرم‌درلیتر BA برای تکثیر شاخساره بهینه بود. امّا افزودن $GA_3$ به محیط کشت تاثیر منفی معنی‌دار روی وزن تر شاخساره داشت. میانگین طول شاخساره اصلی ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) به طور معنی‌دار بلندتر از ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت گیاهان چوبی (WPM) و محیط کشت درایور و کانی‌یوکی گردو (DKW) با نصف غلظت عناصر ماکرو بودند، اما در مقایسه با ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت DKW و MS با نصف غلظت عناصر ماکرو تفاوت معنی‌دار نداشتند. شکل ظاهری و کیفیت شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت DKW از سایر محیط کشت‌ها بهتر بود. ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های دارای ساکارز و گلوکز از نظر شاخص‌های رشد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند ولی هر دو نسبت به محیط کشت‌های دارای فروکتوز برتری معنی‌دار داشتند. محیط کشت‌های نیمه جامد شده با فیتاژل در مقایسه با دیفکو باکتو آگار به طور معنی‌دار وزن تر شاخساره بیشتری تولید نمودند و از نظر کیفیت ظاهری بهتر بودند.

**واژه‌های کلیدی**: فیتاژل، دیفکوباکتو آگار، گلابی وحشی، ساکارز، محیط کشت DKW، BA.

## مقدمه

به رغم این که استان فارس یکی از رویشگاه‌های طبیعی گلابی وحشی گونه‌ی *Pyrus glabra* Boiss. در ایران است، اما اطلاعات کافی در مورد جنبه‌های مختلف رشد این گونه وجود ندارد. برداشت میوه‌ی درختان این گونه برای مصرف یا استخراج بذر به‌منظور فروش به‌عنوان خشکبار توسط ساکنان محلی و عشایر، چرای بی‌رویه عرصه‌های جنگلی و تبدیل اراضی به باغ‌های دیم و آبی در سال‌های اخیر به شدت جنگل‌های گلابی وحشی استان فارس را تهدید می‌کند و زادآوری طبیعی آنها را مختل نموده و از دیدگاه متخصصان جنگل گونه *P. glabra* از گونه‌های در معرض خطر استان فارس است. برای احیای جنگل‌ها و استفاده از این گونه گلابی به‌عنوان پایه برای ارقام مختلف تجاری گلابی ضرورت دارد که تکثیر آن مورد بررسی قرار گیرد. عملی بودن تکثیر گونه‌های گلابی وحشی با بذر طی پژوهشی توسط Akbari Mousavi و Saadat (2006) مورد بررسی قرار گرفت اما به دلیل دگرگشن بودن گلابی، نهال‌های حاصل از بذر شبیه به اصل نیستند. هر چند تکثیر بذر گلابی وحشی،گوناگونی ژنتیکی موجود را بهبود خواهد بخشید، اما چون جنبه اقتصادی گونه برای بهره برداران اهمیت دارد در صورتی که نیاز به تکثیر انبوه یک درخت یا نژادگان برتر باشد نیاز به تکثیر رویشی است که از طریق ریزافزایی این‌کار عملی است. گزارش‌های بسیاری در مورد ریزافزایی رقم‌های مختلف گلابی انجام شده، امّا در مورد گونه‌های گلابی بومی ایران، پژوهش جامعی انجام نشده است. بیشتر پژوهش‌های انجام شده در مورد ریزافزایی گلابی خوراکی (*Pyrus communis*) می‌باشد که از نظر تجاری اهمیت ویژه‌ای دارد و پژوهش در مورد سایر گونه‌های گلابی به‌طور محدود انجام شده است.

محیط کشت MS (Murashige & Skoog ,1962)، توسط بیشتر پژوهشگران گلابی مورد استفاده قرار گرفته است (Shibli *et al.*, 1997; Kadota & Nimmi (2003). از محیط کشت WPM (Lloid & McCown, 1981) برای پرآوری شاخساره ارقام گلابی استفاده نموده‌اند. محیط کشت‌های DKW (McGranahan *et al.*, 1987) و Quoirin & Lepoivre (Quoirin & Lepoivre, 1977) (QL) توسط Bell *et al.* (2009) برای پرآوری شاخساره جانبی مورد استفاده قرار گرفته که برتری آنها را نسبت به MS و WPM گزارش نموده‌اند. ایشان همچنین برتری محیط کشت DKW را نسبت به QLگزارش کرده و اظهار داشته‌اند که شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشتDKW دارای برگ‌های درشت‌تری هستند که برای استفاده جهت تولید شاخساره نابجا مطلوب هستند، در حالی‌که شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت QL بسیار کوتاه و باریک هستند. استقرار ریزنمونه‌های گلابی با استفاده از محیط کشت MS با نصف غلظت نمک‌های ماکرو توسط Baviera و همکاران (۱۹۸۹) نیز گزارش شده است.

برای نیمه جامد کردن محیط کشت از دیفکوباکتو آگار و به‌ندرت از gellan gum استفاده شده است. استفاده از سیستم دو مرحله‌ای کشت ریزنمونه‌ها روی محیط کشت نیمه‌جامد شده با آگار و بعد افزودن محیط کشت مایع بر روی محیط کشت نیمه‌جامد شده با آگار تولید شاخساره را افزایش می‌دهد و برای ازدیاد تجارتی ارقام گلابی در سایر کشورها نیز به‌طور گسترده استفاده می‌شود (Bell & Reed, 2002).

سایتوکاینین بنزیل‌آمینوپیورین (BA) مورد استفاده بیشتر پژوهشگران گلابی قرار گرفته است (Bell *et al.*, 2009; Shibli *et al.*, 1997; Sun *et al.*, 2009)، هرچند از زآتین و 2-isopentyladenine (2ip) نیز استفاده شده است (Bell & Reed, 2002). گزارش شده که افزایش یک میلی‌گرم‌درلیتر BA به محیط کشت برای استقرار و افزونش (تکثیر) شاخساره گلابی کافی است، اما مقدار آن براساس نوع گونه و رقم گلابی می‌تواند تغییر یابد. به‌عنوان مثال برای رقم گلابی ویلیامز افزودن ۰/۷۵ میلی‌گرم‌درلیتر به محیط کشت برای تولید شاخساره کافی است و غلظت بیشتر آن باعث ناهنجاری در فرم برگ‌ها می‌گردد (Morreti *et al.*, 1991). همچنین گزارش شده که غلظت مطلوب BA برای افزونش شاخساره در *P. calleryana* به میزان ۰/۵ میلی‌گرم‌درلیتر بوده است (Berardi *et al.*, 1992). Kadota & Niimi (2003) اثر سایتوکاینین‌های مختلف را روی افزونش شاخساره در *P. pyrifolia* مورد بررسی قرار داده و گزارش نموده‌اند که BA با غلظت ۱۱ میکرومول حداکثر تعداد شاخساره را تولید نمود و نسبت به کاینتین، Thidiazuron (TDZ) و N-(2-chloro-4-pyridil)-N`-phenylurea (CPPU) برتری دارد. در این خصوص Roozban و همکاران (۲۰۰۲) در مورد ریزازدیادی ۹ رقم از ارقام اصلاح شده گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd.) پژوهشی انجام داده و گزارش نموده‌اند که استقرار، رشد و پرآوری ۵ رقم گلابی آسیایی با استفاده از محیط کشت WPM دارای یک میلی‌گرم در لیتر BA امکان‌پذیر است. آنها حداکثر پرآوری شاخساره را بر روی محیط کشت WPM دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر BA گزارش کرده‌اند.

هدف از انجام این پژوهش مطالعه تأثیر تنظیم‌کننده‌های رشد، محیط‌های کشت، مواد ژله‌ای کننده محیط کشت و منابع مختلف کربوهیدرات بر افزونش شاخساره درون شیشه‌ای *P. glabra* بود.

## مواد و روشها

این پژوهش در آزمایشگاه ریزازدیادی و کشت بافت گیاهی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان فارس در سال‌های ۱۳۸٦ تا ۱۳۸۸ انجام شد. برای بررسی ریزازدیادی گلابی وحشی گونه‌ی *P. glabra* با نام محلی انچوچک، از بین درختان شناسایی شده در جنگل ده‌کهنه شهرستان سپیدان چندین درخت انتخاب شده و از تنه جوش‌ها، شاخه‌های رشد فصل جاری و بذرهای آنها به‌عنوان ریزنمونه استفاده گردید.

عمل گندزدایی پنس، اسکال‌پل، ظرف‌های شیشه‌ای، ظرف‌های کاشت و محیط کشت به وسیله اتوکلاو در دمای ۱۲۱/۵ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱ کیلوگرم بر سانتی‌مترمربع به مدت ۲۰ دقیقه انجام شد. ضد عفونی میز کار توسط الکل اتیلیک ۷۰ درصد انجام شد. پنس و اسکال‌پل‌ها در هنگام کار توسط Hot bead sterilizer به مدت یک دقیقه گندزدایی شدند.

برای گندزدایی مواد گیاهی، ابتدا در آزمایشگاه برگ‌های شاخه‌های رشد فصل جاری یا پاجوش‌ها را حذف کرده به‌طوری‌که تنها حدود ۰/۵ سانتیمتر از انتهای دمبرگ بر روی ساقه باقی بماند، بعد شاخساره‌ها را قطعه قطعه کرده و با آب جاری و چند قطره مایع ظرفشویی شسته و به‌منظور کاهش آلودگی قارچی، به مدت یک ساعت در محلول یک‌گرم‌درلیتر بنومیل قرار داده شدند. سپس در زیر لامینار فلو سترون‌سازی‌شده با استفاده از الکل اتیلیک ۷۰ درصد به‌مدت یک دقیقه و غلظت مورد نظر محلول هیپوکلریت سدیم گندزدایی شده و بعد ۳ بار

با آب مقطر سترون‌سازی‌شده آبشویی شدند و در پایان ریزنمونه‌های مناسب از موادگیاهی جدا و روی محیط کشت قرار داده شدند. ظرف‌های کشت مورد استفاده شامل لوله‌های آزمایش دهان گشاد، Baby food jar و Magenta بودند. کشت‌ها در اتاق رشد با دمایی معادل۱±۲۷ درجه سانتی‌گراد با طول دوره روشنایی ۱٦ ساعت و شدت نور ۷۵ میکرومول بر متر مربع در ثانیه که توسط لامپ‌های فلورسنت ایجاد می‌گردید، برای رشد قرار داده شدند. تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1988) و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

**آزمایش ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

در این آزمایش تأثیر غلظت‌های مختلف BA بر شاخص‌های رشد ریزنمونه‌های *P. glabra* مورد بررسی قرار گرفت. از محیط کشت DKW دارای ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر IBA، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و نیمه جامد شده با ۲/۲ گرم در لیتر فیتاژل در تمام تیمارها استفاده گردید. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تیمار شامل غلظت‌های مختلف BA (۰/۲، ۰/۵، ۱/۰، ۱/۵ و ۲/۰ میلی‌گرم در لیتر) اجرا گردید. هر تیمار دارای ۵ تکرار و هر تکرار از ٤ ریزنمونه تشکیل شده بود. از نوک شاخساره‌های تولید شده درون شیشه به طول ۳-۲ سانتی‌متر که دارای ٤-۳ برگ بودند به‌عنوان ریز نمونه استفاده شد. شاخص‌های رشد طول شاخساره اصلی، وزن تر شاخساره، تعداد شاخساره جانبی و وزن تر پینه (کالوس) ٤ هفته پس از کشت یادداشت‌برداری شدند.

**آزمایش ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف $GA_3$ و BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

این آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی اجرا گردید. $GA_3$ با غلظت‌های صفر، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور A و BA با غلظت‌های ۰/۸ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور B مورد استفاده قرار گرفتند. هر تیمار دارای ۵ تکرار و هر تکرار دارای ٤ ریزنمونه بود. از نوک شاخساره‌های رشد یافته در شرایط درون شیشه‌ای به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. محیط کشت MS دارای ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۳۰ گرم در لیتر ساکارز و نیمه‌جامد شده با ۲/۲ گرم در لیتر فایتاژل در همه تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. یادداشت‌برداری شاخص‌های رشد پس از یک ماه انجام شد.

**آزمایش ۳. تأثیر انواع مختلف محیط کشت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

این آزمایش به‌منظور تعیین محیط کشت مناسب برای تولید و استقرار شاخساره انجام شد. از ۵ نوع ترکیب محیط کشت شامل محیط کشت DKW، DKW با نصف غلظت عناصر ماکرو، MS، MS با نصف غلظت عناصر ماکرو و WPM به‌عنوان تیمار استفاده شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و هر تکرار دارای ٤ ریزنمونه انجام گردید و از نوک شاخساره‌های تولید شده درون شیشه با ٦-۳ برگ به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. همه تیمارها دارای ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر IBA، ۰/۸ میلی‌گرم‌درلیتر BA و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز بودند. از دیفکوباکتوآگار به میزان ۸ گرم‌درلیتر جهت نیمه جامد شدن محیط‌های کشت استفاده گردید. ریزنمونه‌ها پس از

۵ هفته به محیط کشت مشابه و تازه منتقل و پس از ۵ هفته شاخص‌های رشد یادداشت‌برداری شدند.

**آزمایش ٤. تأثیر انواع مختلف کربوهیدرات در غلظت‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

این آزمایش به‌منظور تعیین بهترین نوع کربوهیدرات و غلظت مناسب آن برای تولید شاخساره انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با ۵ تکرار و هر تکرار دارای ٤ ریزنمونه انجام گردید. سه نوع مختلف کربوهیدرات شامل ساکارز، گلوکز و فروکتوز به‌عنوان فاکتور A و غلظت‌های ۳۰ و ٤۰ گرم در لیتر به‌عنوان فاکتور B مورد استفاده قرار گرفت. محیط کشت DKW دارای ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، ۰/٦ میلی‌گرم در لیتر BA و نیمه جامد شده با ۲/۲ گرم در لیتر فایتاژل جهت همه تیمارها استفاده گردید. از نوک شاخساره‌های تولید شده درون شیشه با ٦-۳ برگ به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. ریزنمونه‌ها پس از ٤ هفته به محیط کشت تازه و یکسان منتقل و پس از ٤ هفته شاخص‌های رشد یادداشت‌برداری شدند.

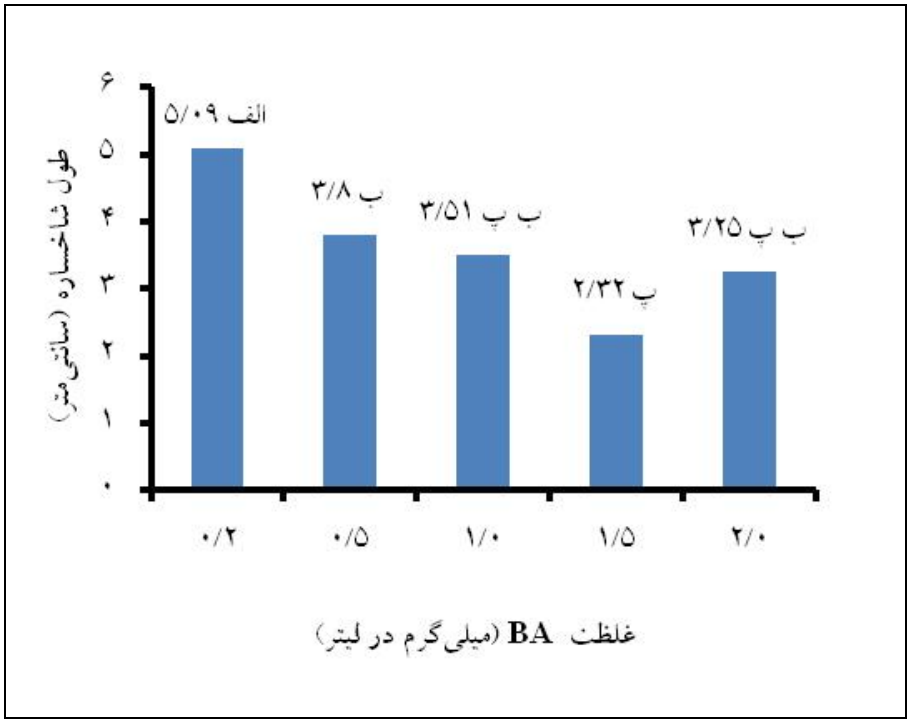
**آزمایش ۵. تأثیر نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلفBA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

این آزمایش به‌منظور بررسی تاثیر نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA بر تولید شاخساره در *P. glabra* انجام شد. آزمایش به صورت فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی اجرا شد. هر تیمار دارای ۷ تکرار و هر تکرار دارای ٤ ریزنمونه بود. دو ماده ژله‌ای کننده محیط کشت دیفکوباکتوآگار (۹ گرم در لیتر) و فیتاژل (۲/۲ گرم‌درلیتر) به‌عنوان فاکتور A و غلظت‌های ۰/۵، ۰/۸ و ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA به‌عنوان فاکتور B استفاده شدند. محیط کشت DKW دارای ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۳۰ گرم‌درلیتر ساکارز جهت همه تیمارها استفاده گردید. از نوک شاخساره‌های رشد کرده درون شیشه دارای ٦-۳ برگ به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. پس از ۵ هفته یادداشت‌برداری شاخص‌های رشد انجام گردید.

## نتایج

**آزمایش ۱. تأثیر غلظت‌های مختلف BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

براساس نتایج حاصل از این آزمایش مشخص گردید که افزایش BA به محیط کشت تأثیر منفی روی رشد طولی شاخساره اصلی دارد و در محیط‌های کشت حاوی BA با غلظت کمتر طول شاخساره اصلی به‌طور معنی‌دار افزایش می‌یابد (شکل ۱). میانگین تعداد شاخساره، وزن تر شاخساره و وزن تر پینه در کلیه تیمارها تفاوت معنی‌دار نداشتند. شاخساره‌های تولید شده روی محیط‌های کشت دارای غلظت‌های کمتر BA دارای کیفیت بهتر و برگ‌های درشت‌تر و کامل‌تر بودند.




**شکل ۱. تاثیر غلظت‌های مختلف BA بر میانگین طول شاخساره اصلی درکشت‌های درون شیشه‌ای *P. glabra*.**

(میانگین‌هایی که دارای حرف‌های مشابه هستند در سطح ۵ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند).

**آزمایش ۲. تأثیر غلظت‌های مختلف $GA_3$ و BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط‌های کشت بدون $GA_3$ در مقایسه با محیط‌های کشت دارای ۱/۰ یا ۲/۰ میلی‌گرم در لیتر $GA_3$ به طور معنی‌دار وزن تر شاخساره بیشتری تولید کردند، اما از نظر سایر شاخص‌های اندازه‌گیری شده با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (جدول ۱).

میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های دارای ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر BA در مقایسه با محیط کشت‌های دارای ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA بیشتر بود، اما در سایر شاخص‌های رشد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند به‌طوری‌که اثر متقابل غلظت‌های مختلف $GA_3$ و BA روی شاخص‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار نبود.

**جدول ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف $GA_3$ و BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*[¥]**

| غلظت‌های مختلف $GA_3$ | وزن تر شاخساره در تکرار (گرم) | میانگین طول شاخساره اصلی در ریزنمونه (سانتی متر) | میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه |
|---|---|---|---|
| صفر میلی‌گرم‌درلیتر | ۲/۹۳ الف | ٤/۰۸ الف | ۱/٥٦ الف |
| ۱/۰ میلی‌گرم‌درلیتر | ۱/۸۲ ب | ۳/۹٥ الف | ۱/۷۲ الف |
| ۲/۰ میلی‌گرم‌درلیتر | ۱/٦۳ ب | ۳/٤۷ الف | ۲/۰٦ الف |
| **غلظت BA** | | | |
| ۰/۸ میلی‌گرم‌درلیتر | ۲/۲۲ الف | ۳/۸۳ الف | ۲/۳۱ الف |
| ۱/۰ میلی‌گرم‌درلیتر | ۲/۱٦ الف | ۳/۸۷ الف | ۱/۲۳ ب |
| اثرمتقابل | ns | ns | ns |

[¥]میانگین‌های هر ستون که دارای حرف‌های یکسانی هستند در سطح احتمال ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند. [ns] اثرمتقابل غلظت‌های مختلف $GA_3$ و BA معنی‌دار نیست.

## آزمایش ۳. تأثیر انواع مختلف محیط کشت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*

براساس نتایج حاصل از این آزمایش مشخص گردید که بین محیط‌های کشت مورد استفاده از نظر وزن تر شاخساره در هر تکرار و میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه تفاوت معنی‌دار وجود ندارد (جدول ۲). میانگین طول شاخساره اصلی ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت MS به‌طور معنی‌دار بلندتر از ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های WPM و DKW با نصف عناصر ماکرو بودند. شکل ظاهری (برگ‌های سبزتر) و کیفیت شاخساره‌های تولید شده (دوکی نبودن شاخساره‌ها) روی محیط کشت DKW از سایر محیط کشت‌ها بهتر بود.

**جدول ۲- تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*[¥]**

| محیط کشت | وزن تر شاخساره در تکرار (گرم) | میانگین طول شاخساره اصلی در ریزنمونه (سانتی‌متر) | میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه |
|---|---|---|---|
| DKW | ۱/۱۳ الف | ٤/۲٤ الف ب | ۲/۹۲ الف |
| DKW (1/2macronutrient) | ۱/۱۰ الف | ۲/۲۰ ب | ٤/۲٥ الف |
| MS | ۱/۳٥ الف | ٦/٤۸ الف | ۲/۳٥ الف |
| MS (1/2macronutrient) | ۱/٥۸ الف | ٤/۳۸ الف ب | ۳/٤٥ الف |
| WPM | ۱/۳۸ الف | ۳/۲٤ ب | ٥/۳٥ الف |

[¥]میانگین‌های هر ستون که دارای حرف‌های مشابه هستند در سطح ۱ درصد آزمون چند دامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

**آزمایش ٤. تأثیر انواع مختلف کربوهیدرات در غلظت‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra***

براساس نتایج بدست آمده از این آزمایش بین ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های دارای ساکارز و گلوکز در کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ولی در مقایسه با ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های دارای فروکتوز به طور معنی‌دار برتری داشتند (جدول ۳).

محیط کشت‌های دارای ۳۰ یا ٤۰ گرم در لیتر کربوهیدرات از نظر کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند (جدول ۳)، اما شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت‌های دارای ۳۰ گرم در لیتر از نظر ساختار ظاهری وضعیت مطلوب‌تری داشتند. البتّه اثر متقابل بین کربوهیدرات‌های مختلف و غلظت‌های آنها از نظر وزن تر شاخساره در هر تکرار، میانگین تعداد شاخساره و میانگین طول شاخساره اصلی معنی‌دار بود ولی از نظر وزن تر پینه در هر تکرار معنی‌دار نبود (جدول‌های ۳ و ٤).

بیشترین مقدار وزن تر شاخساره و تعداد شاخساره در هر ریزنمونه در محیط کشت‌های دارای ۳۰ گرم‌درلیتر ساکارز مشاهده شد (جدول ۳). ساکارز با غلظت ۳۰ گرم در لیتر مناسبترین منبع کربوهیدرات برای تکثیر شاخساره در *P. glabra* بود. تفاوت محسوسی بین غلظت ۳۰ و ٤۰ گرم در لیتر فروکتوز از نظر شاخص‌های رشد مشاهده نشد و میانگین تعداد شاخساره در هر ریزنمونه در غلظت ٤۰ گرم در لیتر گلوکز نسبت به ۳۰ گرم در لیتر به‌طور معنی‌دار بیشتر بود (جدول ٤).

**جدول ۳- تأثیر انواع مختلف کربوهیدرات در غلظت‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*[¥]**

| منبع کربوهیدرات | وزن تر شاخساره در تکرار (گرم) | میانگین طول شاخساره اصلی در ریزنمونه (سانتی‌متر) | میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه | وزن تر پینه در تکرار (گرم) |
|---|---|---|---|---|
| ساکارز | ۳/۱۷ الف | ۲/۰٤ الف | ۲/۵۷ الف | ۰/۷۳ الف |
| فروکتوز | ۱/۲۰ ب | ۱/۰۰ ب | ۱/۰۷ ب | ۰/۱۳ ب |
| گلوکز | ۲/۷۳ الف | ۲/۱٤ الف | ۲/۱۸ الف | ۰/۹۳ الف |
| غلظت کربوهیدرات | | | | |
| ۳۰ گرم در لیتر | ۲/٤۵ الف | ۱/٦۹الف | ۲/۰٤ الف | ۰/٦۸ الف |
| ٤۰ گرم در لیتر | ۲/۲۱ الف | ۱/٦٦ الف | ۱/۷۹ الف | ۰/٤۰ الف |
| اثرمتقابل | ** | * | * | ns |

[¥]: میانگین‌های هر ستون که دارای حرف‌های یکسانی هستند در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

**، * : اثرمتقابل نوع کربوهیدرات و غلظت‌های مختلف آنها به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار است.

ns : اثرمتقابل نوع کربوهیدرات و غلظت‌های مختلف آنها معنی‌دار نیست.

**جدول ٤- اثر متقابل انواع مختلف کربوهیدرات در غلظت‌های متفاوت بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای در *P. glabra***

| نوع کربوهیدرات | غلظت کربوهیدرات (گرم در لیتر) | وزن تر شاخساره در تکرار (گرم)** | میانگین طول شاخساره اصلی در هر ریزنمونه (سانتی‌متر) * | میانگین تعداد شاخساره در هر ریزنمونه* |
|---|---|---|---|---|
| ساکارز | ۳۰ | ۳/۷ الف | ۲/۲٦ الف ب | ۳/۲۲ الف |
| | ٤۰ | ۲/٦٤ ب | ۱/۸۲ ب | ۱/۹۲ ب پ |
| فروکتوز | ۳۰ | ۱/۲۳ پ | ۰/۹۲ پ | ۱/۰٦ پ |
| | ٤۰ | ۱/۱۷ پ | ۱/۱۰ پ | ۱/۰۷ پ |
| گلوکز | ۳۰ | ۲/٤۰ ب | ۲/۰۰ الف ب | ۱/۷۰ پ |
| | ٤۰ | ۳/۲٤ الف ب | ۲/۳۵ الف | ۲/۹۰ الف ب |

*،**: میانگین‌های هر ستون که دارای حرف‌های یکسانی هستند به‌ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

## آزمایش ۵. تأثیر نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلفBA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*

نتایج حاصل از این آزمایش (جدول ۵) نشان داد که ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط‌های کشت نیمه جامد شده با فیتاژل در مقایسه با محیط‌های کشت نیمه جامد شده با دیفکوباکتو آگار از نظر وزن تر شاخساره برتری معنی‌دار داشتند. ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط‌های کشت نیمه جامد شده با دیفکوباکتو آگار و فیتاژل از نظر میانگین طول شاخساره اصلی و تعداد شاخساره در ریزنمونه با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند.

**جدول ۵- تأثیر نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA بر شاخص‌های رشد درون شیشه‌ای *P. glabra*¥**

| نوع ماده ژله‌ای کننده | وزن تر شاخساره در ریزنمونه (گرم) | طول شاخساره اصلی در ریزنمونه (سانتی‌متر) | تعداد شاخساره در ریزنمونه |
|---|---|---|---|
| دیفکوباکتو آگار | ۰/۲۹ ب | ۲/٤۳ الف | ٤/۹۱ الف |
| فیتاژل | ۰/۳٦ الف | ۲/۳۲ الف | ۵/۲۲ الف |
| غلظت BA | | | |
| ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر | ۰/۲٦ ب | ۱/۱۸ الف | ۰/٤۳ ب |
| ۰/۸ میلی‌گرم در لیتر | ۰/۳٦ الف | ۱/۳۸ الف | ۰/٦۲ الف |
| ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر | ۰/۳٤ الف | ۱/۲۳ الف | ۰/۷٤ الف |
| اثرمتقابل | ** | ns | ns |

¥: میانگین‌های هر ستون که دارای حرف‌های یکسانی هستند در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

** : اثرمتقابل نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار است.

ns : اثرمتقابل نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA معنی‌دار نیست.

وزن تر شاخساره در ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط‌های کشت دارای ۰/۸ یا ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر BA به طور معنی‌دار از محیط کشت‌های دارای ۰/۵ میلی‌گرم‌درلیتر BA بیشتر بود، اما در سایر شاخص‌های رشد با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند. اثرمتقابل ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA از نظر میانگین وزن تر شاخساره در ریزنمونه معنی‌دار بود و ترکیب دیفکوباکتو آگار و ۰/۵ میلی‌گرم‌درلیتر BA حداقل وزن تر شاخساره را تولید نمود که در سطح ۱ درصد از سایر ترکیبات ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA کمتر بود (جدول ٦). حداکثر وزن تر شاخساره از ترکیب فیتاژل و ۰/۸ میلی گرم در لیتر BA حاصل گردید.

**جدول ٦- اثر متقابل انواع مختلف ماده ژله‌ای کننده محیط کشت و غلظت‌های مختلف BA بر وزن تر شاخساره در *P. glabra*[¥]**

| نوع ماده ژله‌ای کننده محیط کشت | غلظت BA (میلی‌گرم در لیتر) | | |
|---|---|---|---|
| | ۰/۵ | ۰/۸ | ۱/۰ |
| دیفکوباکتوآگار | ۰/۷۵ ب | ۱/٤۱ الف | ۱/۳۲ الف |
| فیتاژل | ۱/۳۵ الف | ۱/٤۸ الف | ۱/٤۳ الف |

[¥]: میانگین‌هایی که دارای حرف‌های یکسانی هستند در سطح احتمال ۱ درصد آزمون چنددامنه‌ای دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

## بحث

در این پژوهش از BA با غلظت‌های متفاوت به‌عنوان سایتوکاینین برای تکثیر شاخساره استفاده شد و مشخص گردید که برای تکثیر شاخساره در *P. glabra* مناسب می‌باشد . سایتوکاینینBA توسط بیشتر پژوهشگران گلابی مورد استفاده قرار گرفته است (Bell *et al*., 2009; Shibli *et al*., 1997; Sun *et al*., 2009) و برتری آن نسبت به کاینتین، TDZ و CPPU توسط Kadota & Niimi (2003) گزارش شده است. در این خصوص Morreti و همکاران (۱۹۹۱) گزارش نموده‌اند که افزایش یک میلی‌گرم‌درلیترBA به محیط کشت برای استقرار و تکثیر شاخساره گلابی کافی است، اما مقدار آن براساس نوع گونه و رقم گلابی می‌تواند تغییر یابد. در ضمن Berardi و همکاران (۱۹۹۲) گزارش نموده‌اند که غلظت مطلوب BA برای تکثیر شاخساره *Pyrus calleryana* به میزان ۰/۵ میلی‌گرم‌درلیتر بوده است. در این پژوهش غلظت‌های مختلف BA از ۰/۲ میلی‌گرم‌درلیتر تا ۲/۰ میلی‌گرم‌درلیتر همراه با ۰/۰۱ میلی‌گرم‌درلیتر IBA مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که غلظت‌های مختلف استفاده شده BA روی میانگین طول شاخساره اصلی در ریزنمونه تأثیر معنی‌دار داشت. امّا کیفیت شاخساره‌های تولید شده با توجه به غلظت BA در محیط کشت تفاوت دارد و معمولاً در غلظت‌های کم BA ( ۰/۵ میلی‌گرم‌درلیتر) برگ‌های شاخساره‌ها درشت تر و شاداب تر هستند ولی تعداد شاخساره تولید شده کمتر خواهد بود. استفاده از غلظت‌های خیلی کم BA (۰/۲ میلی‌گرم‌درلیتر) رشد ضعیف و نامطلوب نمونه‌ها را در مقایسه با غلظت‌های بیشتر موجب گردید و بیانگر ضرورت استفاده از

غلظت‌های بیشتر BA برای تکثیر شاخساره در *P. glabra* می‌باشد. در غلظت‌های ۰/۵ و ۱/۰ میلی‌گرم‌درلیتر BA، تعداد شاخساره با کیفیت قابل قبول تولید گردید و در غلظت‌های بالاتر از ۱/۰ میلی‌گرم‌درلیتر BA کیفیت شاخساره‌های تولید شده مطلوب نبود به‌ویژه اینکه برای ریشه‌دار کردن مناسب نبودند. تغییرات ریختی ازجمله ریزشدن برگ‌ها و گوشتی و ضخیم شدن ساقه‌ها نیز در شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت‌های دارای غلظت‌های بالاتر از ۱/۰ میلی‌گرم‌درلیتر BA مشاهده گردید که با یافته‌های Niimi و Kadota (2003) و Roozban و همکاران (۲۰۰۲) مطابقت دارد. در محیط کشت دارای ۰/۲ میلی‌گرم‌درلیتر BA نسبت به غلظت‌های بیشتر آن، میانگین طول شاخساره‌های تولید شده بیشتر بود و این امر تأثیر سایتوکاینین‌ها در از بین بردن چیرگی انتهایی ساقه را نشان می‌دهد که در غلظت‌های زیادتر BA رشد طولی ساقه‌ها کاهش می‌یابد.

نتایج این پژوهش نشان داد که افزودن $GA_3$ به محیط کشت تأثیر مثبتی روی شاخص‌های رشد *P. glabra* ندارد و موجب کاهش معنی‌دار وزن تر شاخساره می‌گردد. همچنین Rodriguez و همکاران (۱۹۹۱) گزارش نمودند که $GA_3$ موجب جلوگیری از پرآوری شاخساره در گلابی رقم‌های Jules Guyot و Butirra Precoce Moretinni و نیز جلوگیری از ریشه‌زایی شاخساره‌ها در مراحل بعدی می‌شود.

براساس نتایج حاصل از این پژوهش مشخص گردید که بین محیط کشت‌های MS، DKW، WPM و DKW یا MS با نصف عناصر ماکرو از نظر شاخص‌های میانگین تعداد شاخساره در ریزنمونه و وزن تر شاخساره در هر تکرار تفاوت معنی‌دار وجود نداشت. این موضوع با گزارش Bell و همکاران (۲۰۰۹) که برتری DKW را نسبت به MS و WPM را از نظر تولید شاخساره در هر ریزنمونه در دو رقم گلابی معمولی گزارش نموده و همچنین Roozban و همکاران (۲۰۰۲) که برتری WPM را نسبت به MS گزارش نموده‌اند، در تناقض است که احتمالاً به دلیل تفاوت در گونه‌های مورد بررسی می‌باشد. میانگین طول شاخساره اصلی ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت MS به طور معنی‌دار بلندتر از ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت‌های WPM یا DKW با نصف عناصر ماکرو بود. این امر را می‌توان به غلظت بیشتر عناصر ماکرو و میکرو موجود در محیط کشت MS نسبت داد. شکل ظاهری و کیفیت شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت DKW از سایر محیط‌های کشت بهتر بود و شاخساره‌های تولید شده برای ریشه‌دار نمودن و تولید گیاهچه مطلوب‌تر بودند. این موضوع با گزارش Bell و همکاران (۲۰۰۹) که اظهار داشته‌اند شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشتDKW دارای برگ‌های درشت‌تری هستند و توانمندی بیشتری برای تولید شاخساره نابجا دارند مطابقت دارد. تفاوت اصلی محیط کشت‌های مورد استفاده در میزان یون‌های آمونیوم و نیترات و غلظت کل یون‌هاست و محیط کشت MS دارای میزان بیشتری آمونیوم، نیترات و کلر می‌باشد. محیط کشت DKW دارای نیترات کلسیم به‌عنوان منبع نیتروژن می‌باشد و از نظر یون کلسیم غنی‌تر است. در این تحقیق ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت MS و MS با نصف غلظت عناصر ماکرو از نظر شاخص‌های اندازه‌گیری شده با یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند و با گزارش Nosrati و همکاران (۲۰۰۹) که MS با نصف غلظت عناصر ماکرو را

بهتر از MS گزارش کرده‌اند در تناقض است که احتمالاً به دلیل تفاوت در گونه‌های مورد بررسی می‌باشد.

استفاده از ساکارز و گلوکز در محیط کشت به‌عنوان منبع کربوهیدرات در *P. glabra* نسبت به فروکتوز در کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده، برتری معنی‌دار نشان داد. بیشتر پژوهشگران گلابی از ساکارز به‌عنوان منبع کربوهیدرات استفاده کرده‌اند (Barros *et al*., 2005; Bell *et al*., 2009). در ضمن Kadota و همکاران (۲۰۰۱) گزارش نموده‌اند که منابع مختلف کربوهیدرات به‌طور معنی‌دار روی وزن تازه و تعداد شاخساره در گلابی ژاپنی (*P. pyrifolia*) تأثیر داشت و حداکثر تعداد شاخساره با استفاده از ۳۰-۲۰ گرم در لیتر سوربیتول حاصل گردید. محیط کشت‌های دارای ۳۰ یا ٤۰ گرم در لیتر کربوهیدرات از نظر کلیه شاخص‌های اندازه‌گیری شده با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشتند، اما شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت‌های دارای ۳۰ گرم در لیتر کربوهیدرات از نظر ساختار ظاهری وضعیت مطلوب‌تری داشتند که احتمالاً به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی و جذب نشدن آب و مواد غذایی در محیط کشت‌های دارای ٤۰ گرم‌درلیتر کربوهیدرات می‌باشد.

استفاده از مواد ژله‌ای کننده مختلف از نظر شاخص‌های میانگین تعداد شاخساره و طول شاخساره اصلی در ریزنمونه تفاوت معنی‌دار نشان نداد، اما از نظر وزن تر شاخساره فیتاژل در مقایسه با دیفکوباکتوآگار تفاوت معنی دار داشت. بیشتر پژوهشگران گلابی از دیفکو باکتو آگار به‌عنوان ماده ژله‌ای کننده محیط کشت استفاده کرده‌اند اما در این پژوهش استفاده از فیتاژل به‌عنوان ماده ژله‌ای کننده محیط کشت نشان داد که نسبت به دیفکوباکتو آگار برتری‌هایی دارد. محیط کشت نیمه‌جامد شده با فیتاژل شفاف است و برای آزمایش‌هایی که ریزنمونه‌ها از عرصه تهیه می‌شوند و دارای آلودگی باکتریایی هستند تشخیص نمونه‌های بدون آلودگی راحت‌تر است. همچنین کیفیت شاخساره‌های تولید شده روی محیط کشت‌های نیمه‌جامد شده با فیتاژل بهتر است. برتری فیتاژل نسبت به دیفکو باکتو آگار توسط Saadat و Hennerty (2002) در کشت‌های گردو نیز گزارش شده است.

## سپاسگزاری

از مهندس لیلا سیاح، مهندس بدرالسادات موسوی و مهندس عباس نعمتی که در انجام آزمایش‌ها به طور صمیمانه همکاری نمودند تشکر می‌گردد.

## منابع مورد استفاده

– Akbari Mousavi, Z. and Saadat, Y. A., 2006. Breaking dormancy and germination of wild pear (*Pyrus* spp.) seeds. Iranian J. of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 14: 92-104.
– Barros, M.T.F., Hipolito, C.I. and Baptisa, C.G.M., 2005. *In vitro* rooting of Portuguese pear cultivars (*Pyrus communis*) in response to changes in auxin induction and dark period treatments. Acta Horticulturae, 671: 631-636.
– Baviera, J.A., Garcia, J.L. and Ibarra, M., 1989. Commercial *in vitro* micropropagation of pear cv. Conference. Acta Horticulturae, 256: 63-68.
– Bell, R.L. and Reed, B.M., 2002. *In vitro* tissue culture of pear: advances in techniques for micropropagation and germplasm preservation. Acta Horticulturae, 596: 412-418.
– Bell, R.L., Srinivasan, C. and Lomberk, D., 2009. Effect of nutrient media on axillary shoot proliferation and preconditioning for adventitious shoot regeneration of pears. *In vitro* Cellular and Developmental Biology-Plant, 45: 708-714.
– Berardi, G., Infante, R. and Neri, D., 1992. Micropropagation of *Pyrus calleryana* Dcn. from seedlings. Scientia Horticulturae, 53: 157-165.
– Kadota,' M., Imizu, K and Hirano, T., 2001. Double-phase in vitro culture using sorbitol increases shoot

– Quoirin, M. and Lepoivre, P., 1977. Improved media for *In Vitro* cultures of *Prunus* sp. Acta Horticulturae, 78: 437-442.
– Rodriguez, R., Diaz-Sala, C., Cuozzo, L. and Ancora, G., 1991. Pear *In Vitro* propagation using a double-phase culture system. HortScience, 26: 62-64.
– Roozban, M.R., Arzani, K. and Moieni, A., 2002. Study on *In Vitro* propagation of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. Seed and Plant, 18: 348-361
– Saadat, Y.A. and Hennerty, M. J., 2002. Factors affecting the shoot multiplication of Persian walnut (*Juglans regia* L.). Scientia Horticulturae, 95: 251-260.
– SAS Institute, 1988. SAS/STAT User's Guide. Release 6.03, Statistical Analysis System (SAS) Institute, Inc., Cary, N.C., USA.
– Shibli, R. A., Ajlouni, M.M., Jaradat, A., Aljanabi, S. and Shatnawi, M., 1997. Micropropagation in wild pear (*Pyrus syriaca*). Scientia Horticulturae, 67: 237-242.
– Sun, Q., Sun, H. and Bell, R.L., 2009. Effect of polyvinyl alcohol on *In Vitro* rooting capacity of shoots in pear clones (*Pyrus communis* L.) of different ploidy. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 99: 299-304.
proliferation and reduces hyperhydricity in Japanese pear. Scientia Horticulturae, 89: 207-215.
– Kadota, M. and Niimi, Y., 2003. Effects of cytokinin types and their concentrations on shoot proliferation and hyperhydricity in *In Vitro* pear cultivars shoots. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 72: 201-265.
– Lloyd, G. and McCown, B., 1981. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by the use of shoot tip culture. Proccedings of Plant Propagation Society, 30: 421-427
– McGranahan, G. H., Driver, A. and Tulecke, W., 1987. Tissue culture of *Juglans.* In: Bonga, G. M. and Durzan, D. J., (eds.). *Cell and Tissue Culture in Forestry*, Vol. 3, Martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, Boston, Lancaster, 261-271.
– Moretti, C., Scozzoli, A., Passini, D. and Pagannelli, F., 1991. *In Vitro* propagation of pear cultivars. Acta Horticulturae, 300: 115-122.
– Murashige, T. and Skoog, F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiolgia Plantarum, 15: 473-497.
– Nosrati, S.Z., Zamani Z. and Babalar M., 2009. Micropropagation of Four Cultivars (Dargazi, Natanzi, Shahmiveh and Williams) of Pear (*Pyrus communis* L.). Iranian Journal of Horticultural Science, 40: 83.91.

# Effects of different growth regulators, nutrient media, gelling agents and carbohydrate sources on shoot multiplication of *Pyrus glabra* Boiss.

**Y.A. Saadat[*1], O. Rasti[2] and J. Zamani[3]**

1[*]- Corresponding author, Assist. Prof., Agriculture and Natural Resources Research Center of Fars Province, Shiraz, I.R. Iran, E-mail: Saadat@farsagres.ir
2- M.Sc. in Agricultural Biotechnology, Agriculture and Natural Resources Research Center of Fars Province, Shiraz, I.R. Iran.
3- M.Sc. in Horticulture science, Agriculture and Natural Resources Research Center of Fars Province, Shiraz, I.R. Iran.

Received: 19.08.2011 Accepted: 01.07.2012

## Abstract

Fars province is one of the natural habitats of *Pyrus glabra* Boiss. in Iran. Fruit harvesting, deforestation, expansion of agriculture and overgrazing during recent years has threatened the wild pear forests and imposed detrimental effects on their natural regeneration. Therefore, investigation on propagation of *P. glabra* for afforestation is needed**.** This research was carried out to study the effects of different growth regulators, nutrient media, gelling agents, and carbohydrate sources on shoot multiplication of *P. glabra*. Shoot tips and nodal segments of *In Vitro* propagated shoots originated from seeds and current season growth shoots of selected trees were used as explants. Two concentrations of 0.8 or 1.0 $mgl^{-1}$ BA and 0.01 $mgl^{-1}$ IBA were optimum for shoot multiplication. Addition of $GA_3$ to nutrient medium had negative significant effects on shoot fresh weight of explants. Main shoot length of explants cultured on Murashige and Skoog (MS) medium was significantly longer than those cultured on woody plant medium (WPM) and Driver Kuniyuki walnut (DKW) (half strength macronutrients) medium. Quality and morphology of shoots produced on DKW medium were better than other nutrient media. Explants cultured on media containing sucrose or glucose did not show any significant differences for measured growth indices, but both of them were significantly better than those cultured on the media containing fructose. Media solidified with Phytagel were significantly better than those solidified with Difco Bacto agar for shoot fresh weight. The quality of shoots produced on media solidified with Phytagel was better than those on media solidified with Difco Bacto agar.

**Key words:** BA, DKW nutrient medium, Difco Bacto agar, Phytagel, sucrose, wild pear.