

تعیین روش ریزازدیادی پایه‌های همگروه گلابی OH × F69 و OH × F333

Determination of Micro-propagation Protocol for OH × F333 and OH × F69 Pear Clonal Rootstocks

فاطمه خدایی چگنی^۱، حمید عبداللهی^۲، احمد ارشادی^۳ و محمود اثنی‌عشری^۴

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
- ۲- استادیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، کرج
- ۳- استادیار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
- ۴- دانشیار، دانشگاه بوعلی سینا، همدان

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۸/۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۲۱

چکیده

خدایی چگنی، ف.، عبداللهی، ح.، ارشادی، ا. و اثنی‌عشری، م. ۱۳۹۰. تعیین روش ریزازدیادی پایه‌های همگروه گلابی OH × F69 و OH × F333. مجله به‌زراعی نهال و بذر ۲-۲۷ (۳): ۲۹۷-۳۱۲.

این پژوهش به منظور تعیین پروتکل تکثیر درون شیشه‌ای دو پایه همگروه گلابی OH × F69 و OH × F333 در قالب چهار آزمایش مجزا انجام شد. طی آزمایش اول، اثر محیط‌های MS، QL و QL تغییر یافته روی صفات رویشی ساقه‌چه‌های درون شیشه بررسی شد. در بین این محیط‌ها، محیط کشت QL تغییر یافته با بهترین پرآوری و کیفیت شاخه به عنوان محیط کشت پایه برای آزمایشات بعدی انتخاب شد. در آزمایش دوم و سوم ارزیابی اثر دو نوع سابتوکینین 2iP و BAP بطور جداگانه به ترتیب برای 2iP در چهار غلظت صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱ و ۲ و برای BAP به دلیل اهمیت آن در محیط در سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر انجام شد. نتیجه این دو آزمایش نیز بیانگر برتری غلظت ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر 2iP و BAP با بهترین تعداد و کیفیت ریزشاخه‌ها بود. در آزمایش چهارم بهترین شرایط ریشه‌زایی به دو نحو تیمار طولانی مدت و کوتاه مدت غلظت‌های IBA ارزیابی شد و نتایج نشان دهنده برتری تیمار کوتاه مدت نسبت به تیمار بلند مدت بود. بیشترین درصد ریشه‌زایی، توسعه برگ‌گی، طول و کیفیت ریشه در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA ایجاد شد. به طور کلی به منظور ریزازدیادی این دو پایه گلابی و بقاء مطلوب ریزشاخه‌ها محیط رشدی مشتمل بر نمک‌های پایه QL تغییر یافته غنی شده با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP برای بهبود پرآوری شاخه و تیمار کوتاه مدت با ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA برای ریشه‌زایی این پایه‌ها قابل توصیه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گلابی، پایه، ریزازدیادی، پرآوری و ریشه‌زایی.

مقدمه

ازدیاد ارقام گلابی معمولاً توسط پیوند روی پایه بذری معمولی (*P. communis* L.) یا پایه کلونی به (*C. oblonga* Mill.) و یا گونه‌های دیگر گلابی که با قلمه یا خوابانیدن تکثیر می‌شوند صورت می‌گیرد. این فرآیند علی‌رغم وابسته بودن به فصول خاصی از سال نیازمند صرف زمانی طولانی، تسهیلات خزانه‌ای زیاد و مهارت‌های فردی ویژه می‌باشد (Al-Maarri *et al.*, 1994; Brardi *et al.*, 1993). تکثیر ارقام گلابی از طریق قلمه چوب نرم و سخت به دلیل ریشه‌زایی ضعیف آنها مشکل است (Al-Maarri *et al.*, 1994; Visieur, 1987; Hartmann *et al.*, 1997). با توجه به محدودیت‌های فوق، استفاده از شیوه‌های نوین ریزازدیادی به منظور تکثیر انبوه پایه‌های گلابی متعلق به گونه گلابی اروپایی از نظر اقتصادی قابل توجه است. پاکوتاه‌کنندگی و بازده باردهی و همچنین تحمل شرایط نامساعد خاک از جمله مهم‌ترین شاخص‌ها در گزینش پایه‌های درختان میوه از جمله پایه‌های گلابی می‌باشد. پایه‌های پاکوتاه‌کننده گلابی که متعلق به گونه *P. communis* L. هستند دارای سازگاری بسیار خوبی با ارقام تجاری می‌باشند و این پایه‌ها را می‌توان از طریق روش‌های کشت بافت با سرعت بالا تکثیر و عرضه نمود (Westwood, 1993). دو گروه اصلی پایه‌های همگروه گلابی شامل پایه‌های متعلق به گونه به نظیر QA،

QAdams و QC و گروه دوم متعلق به گونه گلابی نظیر سری دورگ‌های ال‌دهم × فارمینگ‌گدال می‌باشند (Westwood, 1993). پایه OH × F69 (داینیر) یک پایه نیمه پاکوتاه‌کننده می‌باشد، تکثیر آن با قلمه‌های چوب سخت با مشکل همراه است و مقاوم به آتشک نیز می‌باشد. از خصوصیات دیگر این پایه تمایل کم به تولید پاجوش، تولید و باردهی مطلوب، عملکرد بالا و استقرار خوب قابل ذکر است. پایه OH × F333 (بروکمال) نیز پایه‌ای نیمه پاکوتاه‌کننده و تکثیر آن با قلمه‌های چوب سخت با مشکل همراه است. از دیگر مشخصات آن مقاومت به آتشک، مقاومت نسبی به پوسیدگی یقه، حساسیت به نماتدها و ویروس‌ها می‌باشد. این پایه در خاک‌های قلیایی به خوبی رشد کرده و ضمن استقرار مطلوب در خاک میوه‌هایی با اندازه و کیفیت عالی تولید می‌کند (Abdollahi, 2010).

دنیزی و همکاران (Denisy *et al.*, 1999) در یک آزمایش شاخه‌زایی و ریشه‌زایی ریزنمونه‌هایی از پایه‌های درخت گلابی *P. betulifolia*، *P. calleryana* و *P. communis* و دورگ OH × F230 را روی محیط کشت چنگ (Cheng) با غلظت‌های مختلف BA و NAA مورد بررسی قرار دادند و نتیجه گرفتند که بهترین شرایط شاخه‌زایی برای این پایه با بکاربردن ۸ میکرومول BA ایجاد شد. بهترین ریشه‌زایی در

این پایه با بکار بردن IBA با غلظت ۰/۵ میکرومول ایجاد شد. کورین و لپوئیور (Quoirin and Lepoivre, 1977) ترکیب نمک‌های معدنی QL را برای ریزازدیادی گونه‌های مختلف درختان میوه خانواده گلسرخیان معرفی نمودند. آزمایشات پرویاتی و همکاران (Previati et al., 2002) برتری محیط پایه QL را نسبت به محیط MS جهت ریزازدیادی هیبریدهای گلابی نشان داد. لبلائی و همکاران (Leblay et al., 1991) از نمک‌های معدنی QL تغییر یافته به منظور ریزازدیادی ارقام گلابی استفاده نمودند، لیکن مقایسه‌ای بین این ترکیب با سایر نمک‌های معدنی انجام ندادند. کادوتا و نیمی (Kadota and Niimi, 2003) اثر سایتوکنین‌های مختلف را روی ارقام گلابی ژاپنی متعلق به گونه *P. pyrifolia* بررسی و بالاترین میزان پرآوری را در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده نمودند. عمده‌ترین ترکیب تنظیم کننده رشد مورد استفاده در مرحله استقرار کشت درون شیشه‌ای گلابی، ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و یا NAA بوده است (Shibli et al., 1997). در مطالعه‌ای به منظور ازدیاد درون شیشه‌ای پایه‌های مربوط به گونه گلابی *P. calleryana*، بهترین میزان پرآوری شاخساره در محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به دست آمد (Rossi et al., 1991). عبداللهی و همکاران (Abdollahi et al., 2006) در ریزازدیادی ارقام گلابی به منظور استفاده در برنامه انتقال ژن، محیط رشدی مشتمل بر نمک‌های پایه QL تغییر یافته، غنی شده با ۰/۳ ساکارز، ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۱ میلی‌گرم در لیتر 2iP و ۰/۵٪ پکتین خوشه انگور را توصیه نمودند. روزبان و همکاران (Rozban et al., 2002) در پرآوری پنج رقم گلابی ژاپنی، بیش‌ترین میزان پرآوری را در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP برای همه ارقام بدست آوردند. شییلی و همکاران (Shibli et al., 1997) برای پرآوری گلابی گونه *P. syrica* بهترین رشد را روی محیط کشت MS دارای ۱/۵ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر BA گزارش کردند. فریر و همکاران (Freire et al., 2002) در ریزازدیادی گلابی روکا (Rocha) گزارش کردند که غلظت بالای BAP موجب افزایش تعداد شاخه شده و محیط QL در مقایسه با محیط MS موجب توسعه برگ ریزنمونه‌ها و افزایش وزن تر و خشک آنها شده است. دامیکو و همکاران (D'Amico et al., 2002) در ریزازدیادی ۴ رقم گلابی اروپایی سه روش کشت در محیط کشت جامد، مایع و تکنیک غوطه ورسازی موقت را مورد استفاده قرار دادند. در این تحقیق محیط‌های مایع موجب شیشه‌ای شدن ریزنمونه‌ها شد. پایه‌های پاکوتاه کننده گلابی که متعلق به گونه *P. communis* L. می‌باشند دارای سازگاری بسیار خوبی با ارقام تجاری هستند.

۶/۴ میلی‌مول کلسیم، ۷/۵ میلی‌مول آمونیوم و ۳۷/۶ میلی‌مول نترات بود. علاوه بر این هر یک از محیط‌های کشت حاوی ۳۰ گرم ساکارز، ۷/۳ گرم آگار و ۰/۳ گرم پکتین مرکبات بود. pH محیط‌ها حدود 0.1 ± 5.7 قبل از انجام اتوکلاو تنظیم شد و زمان ضدعفونی محیط ۲۰ دقیقه در فشار ۱/۲ اتمسفر و دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد بود. داخل هر شیشه نیز با حدود ۳۰ میلی‌لیتر محیط کشت پر شد و چهار ریزنمونه به طور عمودی کشت گردید. میانگین دمای روز و شب اتاق رشد به ترتیب 1 ± 25 و 1 ± 22 درجه سانتی‌گراد بود. روشنایی با استفاده از لامپ‌های فلوروسنت یا نور سفید با شدت نور بین ۲۰ تا ۴۰ میکرومول بر مترمربع در ثانیه و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی بود. اندازه‌گیری صفات رویشی شامل طول ساقه‌چه، تعداد شاخه، تعداد برگ، سطح برگ (طول \times عرض پهنک)، طول میانگره و میزان نکروز در دوره‌های ۱۵، ۳۰ و ۴۵ روزه بعد از واکشت بود. این آزمایش به صورت فاکتوریل با دو عامل محیط کشت در سه سطح و پایه‌های گلابی در دو سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار به اجرا در آمد. نتایج قطعی پس از دو دوره واکشت برداشت شد و واکشت اول صرفاً برای سازگاری با محیط جدید در نظر گرفته شد.

آزمایش دوم: ارزیابی اثر 2iP

با استفاده از نتایج آزمایش اول، این آزمایش

اغلب این پایه‌ها را می‌توان از طریق روش‌های کشت بافت با سرعت بالایی تکثیر و عرضه نمود. با توجه به این که یکی از اصلی‌ترین روش‌های تکثیر این پایه‌ها استفاده از روش‌های کشت بافت محسوب می‌شود، پژوهش حاضر به منظور دستیابی به روش ازدیاد درون شیشه برای دو پایه مهم این گروه انجام شد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌هایی گیاهی مورد استفاده در این پژوهش از پایه‌های همگروه گلابی OH \times F333 و OH \times F69 با منشاء کشور آمریکا که در بخش تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر به صورت گیاهچه‌های عاری از ویروس در محیط درون شیشه‌ای نگهداری می‌شوند تهیه شد. بهبود شرایط ریزازدیادی طی آزمایشات مجزا و به صورت مرحله به مرحله به اجرا در آمد و در هر مرحله بهترین نتیجه برای استفاده در آزمایشات بعدی مدنظر قرار گرفت.

آزمایش اول: ارزیابی اثر محیط‌های پایه

محیط‌های پایه بکار برده شده شامل: محیط MS (Murashige and Skoog, 1962)، محیط QL (Quoirin and Lepoivre, 1997) و محیط QL تغییر یافته (Leblay et al., 1991) همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA برای همه محیط‌ها بودند. محیط کشت QL تغییر یافته حاوی

تغییر یافته به عنوان ریز قلمه (Micro-cutting) جهت آزمون ریشه‌زایی مورد استفاده قرار گرفتند. به این منظور ریزشاخه‌های دو پایه گلابی با میانگین طول ۳ سانتی‌متر به دو روش در تیمار ریشه‌زایی قرار گرفتند: الف) تیمار طولانی مدت در حالت اول با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و در حالت دوم با ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP. ب) تیمار کوتاه مدت با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA. هر دو نوع محیط ریشه‌زایی حاوی نمک‌های QL تغییر یافته، غنی شده با ۳۰ گرم ساکارز، ۷/۳ گرم آگار و ۰/۳ گرم پکتین مرکبات بود.

در تیمار طولانی مدت پس از انتقال ریزقلمه‌ها به محیط کشت به مدت ۱۰ روز در تاریکی مطلق نگهداری و سپس روی همان محیط به فتوپریود ۱۶ ساعت نور منتقل و ۲ ماه بدون واکشت نگهداری شدند. در تیمار کوتاه مدت ریزقلمه‌ها ۱۰ روز در تاریکی مطلق در حضور غلظت‌های مختلف IBA نگهداری شدند و سپس به محیط فاقد تنظیم کننده رشد حاوی ۳٪ ساکارز، ۷/۳ گرم آگار و ۰/۳ گرم پکتین منتقل و در شرایط نوری و دمایی همانند مرحله پرآوری به مدت ۲ ماه بدون زیر کشت نگهداری شدند. این آزمایش نیز به صورت آزمایش فاکتوریل با عامل پایه‌های گلابی در دو سطح و عامل ریشه‌زایی در پنج سطح در قالب طرح تصادفی با ۵ تکرار اجرا شد. درصد ریشه‌زایی، میانگین تعداد ریشه به ازاء هر

به منظور بهبود پرآوری دو پایه گلابی مورد نظر انجام گرفت. سایتو‌کینین مورد استفاده شامل 2iP در چهار غلظت ۰، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بود. محیط کشت پایه در این آزمایش QL تغییر یافته بود و سایر شرایط همانند مرحله اول انجام شد. این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل با دو عامل غلظت‌های مختلف 2iP در چهار سطح و عامل پایه‌های گلابی در دو سطح اجرا شد و سایر شرایط آزمایش همانند مرحله قبل بود.

آزمایش سوم: ارزیابی اثر BAP در کشت دو فاز

کشت دو فاز محیط کشتی به صورت مایع است که محلول غذایی به راحتی در اختیار گیاه قرار می‌گیرد و به جای آگار از مواد جامد نگهدارنده ریزشاخه‌ها نظیر گلوله‌های شیشه‌ای و یا پرلیت استفاده می‌شود. در این آزمایش پرلیت مورد استفاده ابتدا شسته شده و سپس به محیط اضافه و در اتو کلاو ضد عفونی گردید. محیط کشت پایه به کار رفته در این آزمایش نیز QL تغییر یافته بود و غلظت‌های مختلف BAP شامل ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر بود. این آزمایش نیز به صورت فاکتوریل با دو عامل غلظت‌های مختلف BAP در سه سطح و عامل پایه‌های گلابی در دو سطح در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار همانند آزمایش اول انجام گرفت.

آزمایش چهارم: ارزیابی توان ریشه‌زایی

ریزشاخه‌های پرآوری شده روی محیط QL

این آزمایش مغایرت دارد. ظاهراً فاصله ژنتیکی زیاد ارقام گلابی ایرانی و اروپایی (Safarpour Shorbakhlo *et al.*, 2008)، تفاوت در زمان نمونه‌گیری و سایر عوامل محیطی نظیر شرایط پرورش درخت و یا حتی کیفیت متفاوت مواد مورد استفاده می‌تواند در بروز این تفاوت موثر باشد. از طرفی در این آزمایش بیشترین طول ساقه‌چه با میانگین $5/36$ سانتی‌متر در محیط کشت MS مشاهده شد. همچنین اختلاف معنی‌داری بین پایه‌ها و محیط کشت MS و QL تغییر یافته از نظر طول ساقه‌چه مشاهده نشد (جدول ۱ و ۲). بیشترین طول میانگره در محیط کشت پایه QL تغییر یافته مشاهده شد اما اختلاف معنی‌داری بین سه محیط کشت و پایه‌ها وجود نداشت. محیط‌ها از نظر تعداد برگ، توسعه سطح برگ با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. دو پایه مورد بررسی از لحاظ تعداد برگ و توسعه سطح برگ با همدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند و پایه $OH \times F333$ تعداد برگ و توسعه برگ بیشتری نسبت به پایه $OH \times F69$ داشت (جدول ۲).

نتایج نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در میزان نکرور در سه محیط کشت مورد استفاده بود. به صورتی که میزان آن در محیط کشت MS از سایر محیط‌ها کمتر بود. علت اصلی نکرور جوانه‌های انتهایی در محیط درون شیشه‌ای به طور کامل مشخص نیست ولی به نظر می‌رسد که با کاهش کلسیم در محیط در ارتباط است

ریزقلمه، طول ریشه، کیفیت ریشه و کیفیت ساقه ریز نمونه به صورت چشمی با مقیاس عددی از یک تا پنج (۱: خیلی خوب، ۲: خوب، ۳: متوسط، ۴: بد، ۵: خیلی بد)، توسعه سطح برگ و میزان نکرور پس از ۲ ماه تعیین شد. کلیه داده‌ها به وسیله نرم‌افزار SAS تجزیه واریانس شدند. مقایسات میانگین توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارزیابی اثر محیط‌های پایه

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر محیط کشت بر روی میزان پرآوری در محیط درون شیشه‌ای معنی‌دار بود اما اثر پایه معنی‌دار نشد (جدول ۱). در این بررسی میزان مطلوبیت محیط‌های رشد پایه استفاده شده به ترتیب نزولی به صورت: QL تغییر یافته، MS و QL طبقه‌بندی شد. به نظر می‌رسد علی‌رغم طراحی محیط رشد پایه QL جهت ریزازدیادی گونه‌های درختان میوه، این ترکیب بیشترین مطلوبیت را برای گلابی داشته و برای سایر گونه‌های خانواده گلسرخیان محیط پایه MS همچنان بر QL ترجیح داده می‌شود (DePaoli *et al.*, 1994). نصرتی (Nosrati, 2003) محیط پایه MS را در مقایسه با محیط QL به منظور پرآوری و توسعه برگی ارقام گلابی ایرانی شامل درگزی، شاه میوه و نطنزی مناسب گزارش نموده است که با نتایج

جدول ۱- خلاصه تجزیه واریانس برای خصوصیات رویشی پایه‌های گلابی در محیط‌های مختلف کشت

Table 1. Summary of analysis of variance for vegetative characteristics of pear rootstocks in different cultural media

S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS					نکروز (%) Necrosis (%)
			پراوری Proliferation	طول ساقچه Shootlet length	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ Leaf expansion	طول میانگره Internode length	
Media (M)	محیط کشت	2	39.32 [*]	2.49 [*]	8.74 ^{ns}	544.23 ^{ns}	0.010 ^{ns}	0.04 ^{**}
Rootstock (R)	پایه	1	0.40 ^{ns}	0.385 ^{ns}	34.13 [*]	677.02 ^{**}	0.005 ^{ns}	0.03 ^{**}
M × R	محیط کشت × پایه	2	1.20 ^{ns}	0.146 ^{ns}	3.18 ^{ns}	141.38 ^{ns}	0.010 ^{ns}	0.01 ^{ns}
Error	خطا	24	0.415	0.129	4.59	202.76	0.004	0.003

* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.
ns: Not-significant.

* و **: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns: غیر معنی دار

جدول ۲- اثر محیط‌های کشت مختلف و پایه بر خصوصیات مختلف رویشی گلابی در شرایط درون شیشه

Table 2. Effect of different culture media and rootstock on different vegetative characteristics of pear *in vitro* conditions

	تعداد شاخه Proliferation	طول ساقچه (سانتی متر) Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ (میلی متر مربع) Leaf expansion (mm ²)	طول میانگره (سانتی متر) Internode length (cm)	نکروز (%) Necrosis (%)
Cultural media محیط کشت						
MS	6.44c	5.36a	10.83a	52.69a	0.49a	0.04b
QL	7.54b	4.46b	8.99a	40.78a	0.52a	0.17a
mQL	10.29a	5.35a	9.62a	41.51a	0.56a	0.09b
Rootstock پایه						
OH × F333	7.97a	5.18a	10.88a	60.02a	0.51a	0.07b
OH × F69	8.20a	4.95a	8.74b	29.96b	0.54a	0.13a

میانگین‌هایی، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

به نظر می‌رسد که بخشی از برتری محیط‌های QL و QL تغییر یافته نسبت به محیط MS با افزایش محتوای کل‌سیم آنها در ارتباط است (Abdollahi *et al.*, 2006). اگرچه نتایج این آزمایش تایید کننده ارتباط افزایش کل‌سیم محیط با کاهش نکروز سرشاخه‌های پایه‌های

(Ye *et al.*, 2000). مقایسه سه نوع نمک معدنی مورد بررسی در این آزمایش بیانگر افزایش سطح کل‌سیم در محیط‌های پایه QL و QL تغییر یافته نسبت به محیط پایه MS می‌باشد، درحالی که سطوح آمونیوم در محیط پایه QL نسبت به MS کمتر و در محیط پایه QL تغییر یافته نسبت به QL بیشتر است. بنابراین

گلابی مورد بررسی نیست.

داشتند. از لحاظ طول میانگرمه اختلاف معنی‌داری بین سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2iP مشاهده نشد (جدول ۴). کمترین طول میانگرمه در غلظت صفر 2iP مشاهده شد. دو پایه مورد نظر از لحاظ طول میانگرمه اختلاف معنی‌داری با هم داشتند بطوری‌که بیش‌ترین طول میانگرمه در پایه گلابی OH × F69 ایجاد شد. نکته حائز اهمیت اینست که در اغلب شاخص‌های رشدی پایه‌های گلابی روی محیط‌های حاوی 2iP رفتار مشابه و متفاوتی از محیط شاهد داشتند (جدول ۴).

ارزیابی اثر غلظت‌های BAP

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر عامل پایه بر روی میزان پرآوری و توسعه سطح برگ معنی‌دار شد و برای طول ساقه‌چه، تعداد برگ و طول میانگرمه معنی‌دار نبود (جدول ۵). اثر غلظت BAP بر طول ساقه‌چه، میزان پرآوری، تعداد برگ، توسعه سطح برگ و طول میانگرمه معنی‌داری بود. اثر متقابل پایه × غلظت BAP بر صفات طول ساقه‌چه، تعداد برگ، توسعه سطح برگ و طول میانگرمه معنی‌دار بود ولی این اثر متقابل بر روی میزان پرآوری معنی‌دار نبود (جدول ۵).

بین دو پایه موجود بیشترین پرآوری به میزان ۵/۴ شاخساره در پایه گلابی OH × F333 مشاهده شد (جدول ۶). بیشترین پرآوری در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP و کمترین پرآوری در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP

ارزیابی اثر غلظت‌های 2iP

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین طول ساقه‌چه مربوط به غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر 2iP و کمترین آن مربوط به شاهد بود (جدول ۳ و ۴)، اما اختلاف معنی‌داری بین سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر از نظر طول ساقه‌چه مشاهده نشد. دو پایه گلابی از نظر طول ساقه‌چه با هم اختلاف معنی‌داری داشتند که بیشترین طول ساقه‌چه با میانگین ۵/۴۱ سانتی‌متر در پایه همگروه OH × F69 مشاهده شد (جدول ۴).

میزان پرآوری در چهار غلظت به کار رفته تفاوت معنی‌داری با هم داشت. بیشترین میزان پرآوری (۷/۹۴ شاخساره) در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP و کمترین آن در شاهد مشاهده شد. اختلاف معنی‌داری بین سه غلظت ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر 2iP از لحاظ تعداد شاخه مشاهده نشد. بیشترین تعداد برگ در شاهد بدون 2iP و کمترین تعداد برگ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر تولید شد و از لحاظ میزان توسعه سطح برگ بیشترین سطح برگ در شاهد و کمترین آن در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر بود (جدول ۴). در غلظت‌های بالای 2iP برگ‌ها فرصت رشد و تکامل پیدا نکردند زیرا مواد غذایی جذب شده صرف تولید شاخه‌ها شده و تکافوی توسعه سطح برگ‌ها را نداشتند، اما در شاهد میزان پرآوری شاخه کم ولی برگ‌ها رشد خوبی

جدول ۳ - خلاصه تجزیه واریانس برای خصوصیات رویشی پایه‌های گلابی در غلظت‌های مختلف 2iP در شرایط درون شیشه‌ای

Table 3. Summary of analysis of variance for vegetative characteristics of pear rootstocks in different 2iP concentrations *in vitro* conditions

S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS				
			پرآوری Proliferation	طول ساقه‌چه Shootlet length	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ Leaf expansion	طول میانگره Internode length
2ip	سایتوکینین	2	39.32 [*]	2.49 [*]	8.74 ^{ns}	544.23 ^{ns}	0.010 ^{ns}
Rootstock (R)	پایه	1	0.40 ^{ns}	0.385 ^{ns}	34.13 [*]	677.02 ^{**}	0.005 ^{ns}
2ip × R	اثر متقابل سایتوکینین × پایه	2	1.20 ^{ns}	0.146 ^{ns}	3.18 ^{ns}	141.38 ^{ns}	0.010 ^{ns}
Error	خطا	24	0.415	0.129	4.59	202.76	0.004

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.
ns: Not-significant.

ns: غیر معنی‌دار

جدول ۴ - اثر غلظت‌های مختلف 2iP بر صفات مختلف رویشی دو پایه گلابی در شرایط درون شیشه
Table 4. Effect of 2iP concentrations and rootstock on vegetative characteristics of pear rootstocks in *in vitro* conditions

	تعداد شاخه Proliferation	طول ساقه‌چه (سانتی‌متر) Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ (میلی‌متر مربع) Leaf expansion (mm ²)	طول میانگره (سانتی‌متر) Internode length (cm)
	سایتوکینین (میلی‌گرم در لیتر) 2iP (mg/l)				
0 (Control)	5.27b	3.55b	10.80a	124.81a	0.32b
0.5	7.94a	5.71a	8.49b	83.49b	0.66a
1	6.97a	5.68a	8.93b	81.42cb	0.65a
2	7.31a	5.78a	9.02b	66.54c	0.65a
پایه Rootstock					
OH × F333	6.88a	4.94b	9.47a	89.11a	0.53b
OH × F69	6.86a	5.41a	9.15a	89.01a	0.61a

میانگین‌هایی، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

بیشترین طول ساقه‌چه و تعداد برگ در غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر و کمترین طول ساقه‌چه در غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد. از نظر طول ساقه‌چه تفاوت معنی‌داری بین دو پایه مورد آزمایش دیده نشد. ظاهراً این دو پایه گلابی مشابه جنس‌های دیگر خانواده گل‌سرخیان نظیر جنس *Prunus* که در

ایجاد شد (جدول ۶). روسی و همکاران (Rossi *et al.*, 1991) بهترین نرخ پرآوری شاخساره را برای گلابی در فاصله زمانی ۲۵ روزه را در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP گزارش کردند. این نتایج با گزارش سینگا (Singha, 1982) که میزان ۱ تا ۲ میلی‌گرم در لیتر BAP را برای ریزازدیادی رقم سکل (Seckel) توصیه نمود مطابقت دارد.

جدول ۵ - خلاصه تجزیه واریانس برای خصوصیات رویشی پایه‌های گلابی در غلظت‌های مختلف BAP در شرایط درون شیشه‌ای

Table 5. Summary of analysis of variance for vegetative characteristics of pear rootstocks in different BAP concentrations *in vitro* conditions

S.O.V.	منبع تغییر	درجه آزادی df.	میانگین مربعات MS				
			پرآوری Proliferation	طول ساقچه Shootlet length	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ Leaf expansion	طول میانگره Internode length
BAP	سایتوکینین	2	26.98**	2.84**	39.59**	124.06**	0.004*
Rootstock (R)	پایه	1	7.70*	0.003 ^{ns}	0.09 ^{ns}	843.76*	0.001 ^{ns}
BAP × R	پایه × سایتوکینین	2	4.00 ^{ns}	2.67**	8.56*	1676.63**	0.001**
Error	خطا	24	1.50	0.385	1.86	125.75	0.00

* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.
ns: Not- significant.

ns: غیر معنی دار

جدول ۶- اثر غلظت‌های مختلف BAP و پایه بر خصوصیات مختلف رویشی پایه‌های گلابی در شرایط درون شیشه

Table 6. Effect of BAP concentrations and rootstock on vegetative characteristics of pear rootstocks in *in vitro* conditions

BAP (mg/l)	سایتوکینین (میلی گرم در لیتر)				
	تعداد شاخه Proliferation	طول ساقچه (سانتی متر) Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ (میلی متر مربع) Leaf expansion (mm ²)	طول میانگره (سانتی متر) Internode length (cm)
0.5	3.20c	3.53a	15.15a	124.81a	0.23b
1	6.48a	3.38a	13.11b	107.10b	0.26a
2	5.00b	2.54b	11.55c	127.74a	0.21b
	پایه Rootstock				
OH × F333	5.40a	3.16b	13.21b	114.58b	0.24a
OH × F69	4.38b	3.14a	13.32a	125.18a	0.22a

میانگین‌هایی، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حروف مشابه می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

بیشتر از پایه OH × F333 بود (جدول ۶).
بیشترین طول میانگره در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BAP مشاهده شد، دو غلظت دیگر BAP و دو پایه گلابی تفاوت معنی داری با هم نداشتند (جدول ۶). مقایسه میانگین اثر متقابل پایه × غلظت سایتوکینین نشان داد که حداکثر طول ساقچه مربوط به پایه OH × F69 و غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر BAP بود و غلظت

غلظت‌های بالاتر از ۰/۷ میلی گرم در لیتر BAP تولید شاخه‌های روزت می‌نمایند، نیازمند سطوح پایین تر هورمون سایتوکینین برای ایجاد شاخساره‌هایی با طول بیشتر می‌باشد (Kadota and Niimi, 2003). بیشترین توسعه سطح برگ در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر و کمترین آن در غلظت ۱ میلی گرم در لیتر BAP ایجاد شد و توسعه سطح برگ پایه OH × F69

جدول ۷- اثر متقابل BAP × پایه بر خصوصیات مختلف رویشی پایه گلابی در شرایط درون شیشه
Table 7. BAP × rootstock interaction effect on different vegetative characteristics of pear rootstocks in *in vitro* conditions

اثر متقابل Interaction	طول ساقه چه (سانتی متر) Shootlet length (cm)	تعداد برگ Leaf number	توسعه برگ (میلی متر مربع) Leaf expansion (mm ²)	طول میانگره (سانتی متر) Internode length (cm)	
0.5 BAP	OH × F333	3.00b	14.62a	130.20b	0.20b
	OH × F 69	4.06a	15.68a	119.42cb	0.25a
1.0 BAP	OH × F333	3.44ab	14.12a	115.50cb	0.25a
	OH × F 69	3.32ab	12.10b	108.70cb	0.27a
2.0 BAP	OH × F333	3.04b	10.90b	108.04c	0.27a
	OH × F 69	2.04c	12.20b	153.44a	0.16c

میانگین هایی، در هر ستون، که دارای حرف مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی دار ندارند.

Means, in each column, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

در لیتر BAP بود (جدول ۷).

ارزیابی تیمارهای ریشه زایی

نتایج بیانگر عدم توان ریشه زایی ریزقلمه های گلابی در تیمار طولانی مدت با IBA است (جدول ۸ و ۹). تیمارهای بلندمدت احتمالاً به دلیل غلظت کم IBA و یا نسبت یکسان ترکیبات اکسینی به سایتو کینینی قادر به تحریک ریشه زایی نبودند و یا حضور IBA پس از مرحله ریشه زایی سبب زایل شدن توان رشد طولی پریموردیاهای ریشه شدند. این یافته ها با نتایج منهاجی (2010, Menhaji) بر روی ارقام گلابی بومی ایران مغایرت دارد. منهاجی (2010, Menhaji) نشان داد که ریشه زایی ریزقلمه های ارقام گلابی تجارتي بومی در تیمار طولانی مدت با غلظت های کم IBA و یا در تیمارهای که غلظت IBA به BAP یکسان بودند و ریز قلمه ها به محیط عاری از

۲ میلی گرم در لیتر BAP در این رقم باعث کاهش طول ساقه چه با طول ۲/۰۴ سانتی متر شد (جدول ۷). بررسی اثر متقابل دو عامل بر روی تعداد برگ نشان داد که بیشترین تعداد برگ مربوط به پایه OH × F69 و غلظت ۰/۵ میلی گرم در لیتر بود و کمترین تعداد برگ در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و پایه OH × F333 تولید شد (جدول ۷). اثر متقابل پایه × غلظت سایتو کینین روی توسعه سطح برگ نشان داد که بیشترین توسعه برگی در پایه OH × F69 و غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP ایجاد شد و کمترین توسعه سطح برگ را در پایه OH × F333 و غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP دیده شد و اثر متقابل پایه × غلظت سایتو کینین روی طول میانگره معنی دار بود و بیشترین طول میانگره مربوط به پایه OH × F333 و غلظت ۲ میلی گرم در لیتر BAP و کمترین طول میانگره مربوط به پایه OH × F69 و غلظت ۲ میلی گرم

جدول ۸ - خلاصه تجزیه واریانس ریشه‌زایی و صفات رویشی پایه‌های گلابی در تیمارهای مختلف IBA در شرایط درون شیشه

Table 8. Summary of analysis of variance for rooting and vegetative characteristics of pear rootstocks in different IBA treatments in *in vitro* conditions

S.O.V.	منبع تغییرات	df.	میانگین مربعات MS						
			ریشه‌زایی (%)	توسعه برگ	طول ریشه	کیفیت ساقه	کیفیت ریشه	تعداد ریشه	نکروز (%)
IBA	اکسین	4	4543.75*	1168.33*	19.35*	1.12 ^{ns}	11.08*	21.35*	0.13*
Rootstock (R)	پایه	1	50.00 ^{ns}	11.52 ^{ns}	1.12 ^{ns}	0.98 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.32 ^{ns}	0.14*
IBA × R	اکسین × پایه	4	81.25 ^{ns}	37.97 ^{ns}	1.66 ^{ns}	0.88 ^{ns}	1.12 ^{ns}	0.77 ^{ns}	0.05 ^{ns}
Error	خطا	40	525	20.33	1.78	0.43	1.05	2.33	0.02

* and **: Significant at the 5% and 1% levels of probability, respectively.
ns: Not-significant.

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

جدول ۹ - اثر تیمارهای مختلف IBA و پایه بر ریشه‌زایی و خصوصیات رویشی پایه‌های گلابی در شرایط درون شیشه

Table 9. Effect of different IBA treatments and rootstock on rooting and vegetative characteristics of pear rootstocks in *in vitro* conditions

	ریشه‌زایی (%)	توسعه برگ (میلی متر مربع)	طول ریشه (سانتی متر)	کیفیت ساقه	کیفیت ریشه	تعداد ریشه	نکروز (%)
اکسین (میلی گرم در لیتر) IBA (mg/l)							
0.1 (Long period)	5.00c	16.80d	0.45c	2.70a	4.60a	0.60b	0.45a
0.5 (Short period)	17.50bc	33.00b	1.75b	2.70a	3.60b	2.100a	0.20abc
1.0 (Short period)	37.50ab	40.60a	2.80ab	2.30ab	3.20cb	2.90a	0.21bc
2.0 (Short period)	50.00a	41.50a	3.15a	2.50ab	2.40c	3.40a	0.15c
1 IBA +1 BAP (Long period)	0.00c	23.00c	0.00c	1.90b	5.00a	0.00b	0.32ab
پایه Rootstock							
OH × F333	21.00a	30.56a	1.78a	2.28a	3.68a	1.88a	0.23b
OH × F69	23.00a	30.56a	1.48a	2.56a	3.84a	1.72a	0.34a

میانگین‌هایی، در هر ستون و برای هر عامل، که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌دار ندارند.

Means, in each column and for each factor, followed by similar letter are not significantly different at the 5% probability level-using Duncan's Multiple Range Test.

تحقیق (پایه‌های همگروه با منشاء گلابی‌های اروپائی)، گلابی‌های مورد استفاده در تحقیق منهاجی (Menhaji, 2010) در بردارنده ارقام بومی و در نهایت گلابی‌های مورد استفاده در

تنظیم‌کننده‌های رشد منتقل نشدند ریشه‌زایی آنها نیز همانند تیمار کوتاه مدت با IBA بالا بود. مقایسه سه گروه گلابی‌های مورد استفاده در تحقیقات مختلف شامل گلابی‌های این

بیشترین طول ریشه در غلظت ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر IBA و کمترین طول ریشه در ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA ایجاد شد و در تیمار طولانی مدت که IBA با غلظت ۱ میلی گرم در لیتر و BAP با غلظت ۱ میلی گرم در لیتر به کار رفته هیچ گونه ریشه‌زایی اتفاق نیفتاد (جدول ۹).

کیفیت ساقه در غلظت‌های به کار رفته IBA تفاوت معنی‌داری با هم نداشت ولی از لحاظ کیفیت ریشه در غلظت‌های مختلف IBA تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۹). بهترین کیفیت ریشه در غلظت ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر IBA و کمترین آن در ساقه‌چه‌هایی که تحت تیمار طولانی مدت با IBA قرار گرفته بودند ایجاد شد (جدول ۹). بیشترین میانگین تعداد ریشه در هر ریزقلمه در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA و کمترین آن در تیمار طولانی مدت، IBA ایجاد شد. میزان نکروز در بین غلظت‌های مختلف IBA تفاوت معنی‌داری داشت که کمترین نکروز در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA و بیشترین نکروز در غلظت ۰/۱ میلی گرم در لیتر IBA ایجاد گردید (جدول ۹). بین دو پایه مورد نظر از نظر میزان نکروز تفاوت معنی‌داری مشاهده شد. بیشترین میزان نکروز در پایه $OH \times F333$ (۰/۳۴٪) و کمترین میزان نکروز در پایه $OH \times F69$ (۰/۲۳ درصد) ایجاد شد (جدول ۹). این نتایج نشان می‌دهد که هر کدام از این دو پایه نیازمند شرایط تغذیه‌ای متفاوت می‌باشند.

مقایسه عمومی خصوصیات رشدی پایه‌های

تحقیق عبداللہی و همکاران (Abdollahi et al., 2006) در بردارنده ارقام اروپائی و تفاوت ریشه‌زائی مشاهده شده در آنها، تایید کننده پتانسیل و شرایط بهینه متفاوت تولید ریشه در گروه‌های مختلف ارقام گلابی می‌باشد. این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت سطح هورمون‌های درونی ارقام، حساسیت به سطوح مختلف IBA و مدت زمان در معرض قرار گرفتن آنها و یا حتی تفاوت اولیه در تولید پریموردیاهای ریشه باشد. ریشه‌زایی پایه‌ها در تیمار کوتاه مدت (۱۰ روزه) با IBA مطلوب بود (جدول ۹). توسعه سطح برگ، طول ریشه، کیفیت ساقه، کیفیت ریشه، میانگین تعداد ریشه به ازاء هر ریزقلمه و میزان نکروز در دو پایه مختلف نیز رفتار یکسانی را نشان دادند (جدول ۹). پائین‌ترین درصد ریشه‌زایی در تیمار طولانی مدت ایجاد شد و بیشترین آن در غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA که تحت تیمار کوتاه مدت قرار گرفت مشاهده شد. بیشترین توسعه سطح برگ در غلظت ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر و کمترین آن در تیمار طولانی مدت بود (جدول ۹). نتایج این آزمایش با گزارش عبداللہی و همکاران (Abdollahi et al. 2006) که ۱ میلی گرم در لیتر IBA را برای ریشه‌زایی چند رقم گلابی اروپایی به کار برده بودند مطابقت داشت. غلظت ۲ میلی گرم در لیتر IBA علاوه بر اینکه بیشترین درصد ریشه‌زایی را سبب شد و کمترین میزان نکروز و بالاترین کیفیت ریشه و توسعه برگ را ایجاد نمود.

بهترین محیط برای ریزازدیادی پایه‌های نیمه‌پاکوتاه کننده فوق قابل توصیه می‌باشد. غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر 2iP با ایجاد بیشترین پرآوری و توسعه سطح برگ و ایجاد مناسب‌ترین طول میانگره می‌تواند به عنوان یک تنظیم کننده رشد مناسب در تکثیر تجارتهای این پایه‌ها مورد استفاده قرار گیرد. در کشت دو فاز نیز وجود ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP با ایجاد بیشترین پرآوری شاخساره، مناسب‌ترین غلظت تعیین شد و غلظت ۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین ریشه‌زایی را در ریزقلمه‌ها تحت تیمار کوتاه مدت ایجاد کرد. با توجه به پایین بودن درصد ریشه‌زایی حتی در موثرترین غلظت IBA لازم است در آینده به منظور تکثیر تجارتهای این دو پایه در شرایط درون شیشه نسبت به بهبود میزان ریشه‌زایی تلاش کرد.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کارکنان آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی بخش تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر که در انجام این تحقیق همکاری کردند تشکر و قدردانی می‌شود.

گلابی در این تحقیق نشان دهنده تاثیر مثبت غلظت‌های ۰/۵ تا ۲ میلی‌گرم بر لیتر 2iP روی پرآوری و خصوصیات رشدی آنهاست. به صورتی که با حضور 2iP در محیط رشد میزان پرآوری به نزدیک دو برابر محیط فاقد آن افزایش یافت. نکته حائز اهمیت دیگر توسعه سطح برگ در حضور 2iP نسبت به محیط‌های فاقد آن و در نهایت توسعه قابل توجه برگ‌ها در محیط کشت دو فاز بود. نتایج نشان می‌دهد که ایجاد شرایط رشدی مناسب و در دسترس بودن عناصر غذایی در کشت دو فاز نسبت به محیط واجد آگار تاثیر بیشتری نسبت به انتخاب ترکیب تنظیم کننده‌های رشد در بهبود کیفیت ساقه‌چه‌های درون شیشه پایه‌های گلابی دارد. علاوه بر این سرعت رشد ساقه‌چه‌های درون شیشه در شرایط کشت دو فاز بسیار سریع و طی دو هفته از زمان واکشت به حدنهایی رشد خود در شرایط درون شیشه رسیدند. براین اساس می‌توان در ادامه این تحقیق بهبود کشت دو فاز را برای این پایه‌ها در مراحل پرآوری و ریشه‌زایی مد نظر قرار داد. نتیجه‌گیری کلی از چهار آزمایش انجام شده نشان می‌دهد محیط کشت QL تغییر یافته در بین محیط کشت‌های مورد آزمایش به عنوان

References

- Abdollahi, H. 2010. Pear: Botany, cultivars and rootstocks. Iranian Agricultural Ministry Publications. Tehran, Iran. 200 pp.
- Abdollahi, H., Muleo, R., and Rugini, E. 2006. Optimization of regeneration and

maintenance of morphogenic callus in pear (*Pyrus communis* L.) by simple and double regeneration techniques. *Scientia Horticulturae* 108: 352-358.

- Al-Maarri, K., Arnaud, Y., and Misipiac, E. 1994.** Micropropagation of *Pyrus communis* Passe Crassan seedling and cultivar Williams: factors affecting root formation *in vitro* and *ex vitro*. *Scientia Horticulturae* 58: 207-214.
- Brardi, G., Infante, R., and Neri, D. 1993.** Micro-propagation of *Pyrus calleryana* Decne. from seedlings. *Scientia Horticulturae* 53: 157-165.
- D'Amico, C., Frattarelli, A., and Giorgioni, M. 2002.** Micro-propagation of pear through temporary immersion. *Acta Horticulturae* 596: 425- 429.
- Denisy, Y., Yeo, B., and Reed, M. 1999.** Micro-propagation of *Pyrus* rootstocks. *HortScience* 30: 620-623.
- DePaoli, G., Rossi, V., and Scozzoli, A. 1994.** Micro-propagazione delle Piante Ortoflotofrutticole. Edagricole, Bologna, Italy. 450 pp.
- Freire, I. C. G., Oelho, C. P. S. C., and Barros, M. T. F. 2002.** Improved culture media for the *in vitro* establishment of pear from nodal cuttings. *Acta Horticulturae* 569: 457- 461.
- Hartmann, H. T., Kester, D. E., Davies, F. T., and Geneve, R. L. 1997.** Plant propagation: Principles and practices. 6th edition. Upper Saddle River, NJ, Prentice- Hall International, Inc., USA. 770 pp.
- Kadota, M., and Niimi, Y. 2003.** Effects of cytokinin types and their concentration on shoot proliferation and hyperhydricity in *in vitro* pear cultivar shoots. *Plant Cell, Tissue Organ Culture* 72: 261-265.
- Leblay, C., Chevreau, E., and Raboin, L. M. 1991.** Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaves of several pear cultivars (*Pyrus communis* L.). *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 25: 99-105.
- Menhaji, M. A. 2010.** *In vitro* establishment and micro-propagation of several native pear cultivars for use in genetic transformation program. M. Sc. Thesis. Science and Research Unit, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
- Murashige, T., and Skoog, F. 1962.** A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
- Nosrati, S. Z. 2003.** *In vitro* propagation of some pear (*Pyrus communis* L.) cultivars. M. Sc. Thesis. The University of Tehran, Tehran, Iran.

- Previati, A., Darei, F., Bassi, D., Tagliavini, M., and Marangoni, B. 2002.** Development of protocols for *in vitro* propagation of advanced selections of *Pyrus communis* rootstocks 69BIS. *Acta Horticulturae* 596: 505-508
- Quoirin, M., and Lepoivre, P. 1977.** Improved medium for *in vitro* culture of *Prunus* sp. *Acta Horticulturae* 78: 437-442.
- Rossi, V., DePaoli, G., and Dal Pozzo, P. 1991.** Propagation of *Pyrus calleryana* Sel. D6 by *in vitro* culture. *Acta Horticulturae* 300: 145-148.
- Rozban, M. Arzani, K., and Moini, A. 2002.** Study on *in vitro* propagation of some Asian pear (*Pyrus serotina* Rehd.) cultivars. *Seed and Plant* 18: 348-361.
- Safarpour Shorbakhlo, M., Bahar, M., Tabatabae, B. E. S. and Abdollahi, H. 2008.** Determination of genetic diversity in pear (*Pyrus* spp.) using microsatellite markers. *Iranian Journal of Horticultural Science and Technologies* 9: 113-128.
- Shibli, R. A., Ajlouni, M. M., Jaradat, A., Aljanabi, S., and Shatnawi, M. 1997.** Micropropagation in wild pear (*Pyrus syrica*). *Scientia Horticulturae* 68: 237-242.
- Singha, S. 1982.** Influence of agar concentration on *in vitro* shoot proliferation of *Mallus* sp. *Almey and Pyrus communis* Seckel. *Journal of American Society for Horticultural Science* 107: 657-660.
- Viseur, J. 1987.** Micro-propagation of pear, *Pyrus communis* L. in a double-phase culture medium. *Acta Horticulturae* 212: 117-124.
- Westwood, M. N. 1993.** Temperate zone pomology. Portland, Timber Press, USA. 523 pp.
- Ye, G., Mcneil, D. L., Conner, A. J., and Hill, G. D. 2000.** Multiple shoot formation in lentil (*Lens culinaris*) seeds. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 30: 1-8.