بررسی تأثیر محیط کشت، نوع و غلظت منبع‌کربنی بر پرآوری پایه گیزیلا ۶

پریسا اقبالی شره‌جینی[۱]، علیرضا فرخزاد[۲]* و بهمن حسینی[۳]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۱/۵- تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۲/۶)

چکیده

با توجه به مشکلات ناشی از کاشت پایه‌های بذری و غیریکنواخت در باغ‌های درختان میوه هسته‌دار، استفاده از پایه‌های یکنواخت و سازگار با این درختان امری ضروری است. تکنیک کشت بافت یکی از روش‌های مهم و مفید برای ازدیاد این نوع پایه‌ها می‌باشد. به منظور دست‌یابی به محیط کشت، نوع و غلظت قند مناسب برای پرآوری پایه گیزیلا ۶ در شرایط درون شیشه‌ای، پژوهش حاضر در قالب دو آزمایش جداگانه انجام گرفت. در آزمایش اول، اثر چهار محیط کشت MS، VS، QL و NN در قالب طرح آماری کاملا تصادفی و در آزمایش دوم، نوع قند (ساکارز، گلوکز، فروکتوز و سوربیتول) و غلظت قند (۱۵، ۳۰ و ۴۵ گرم بر لیتر) به صورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملا تصادفی در ۵ تکرار مورد بررسی قرار گرفت. صفات طول و تعداد شاخساره به ازای هر ریزنمونه، تعداد گره، تعداد برگ، وزن تر و خشک ریزنمونه‌ها و طول میانگره مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج، بیشترین طول شاخساره در محیط کشت MS و کمترین طول و تعداد شاخساره در محیط کشت NN مشاهده شد. برای اکثر صفات، کمترین مقدار در قند سوربیتول (تمامی غلظت‌ها) مشاهده شد. بیشترین طول شاخساره در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر فروکتوز و بیشترین تعداد شاخساره در تیمار گلوگز ۴۵ گرم در لیتر مشاهده شد. براساس نتایج این پژوهش مشخص شد که محیط کشت MS با منبع کربنی ساکارز یا گلوگز در غلظت ۳۰ گرم در لیتر مناسب‌ترین محیط کشت برای پرآوری پایه گیزیلا ۶ می‌باشد.

کلمات کلیدی: ازدیاد درون شیشه‌ای، ریزنمونه، کربوهیدرات، محیط کشت MS

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد بیوتکنولوژی و ژنتیک ملکولی محصولات باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۲- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

۳- دانشیارگروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

* پست الکترونیک:a.farokhzad@urmia.ac.ir

مقدمه

گیزیلا ۶[1]، به عنوان یکی از پایه‌های نیمه‌پاکوتاه گیلاس[2] از هیبرید بین *Prunus cerasus* × *Prunus canescens* حاصل شده است که به دلیل خصوصیات مهم زود باردهی، پاکوتاهی، مقاومت نسبتاً خوب به آهک خاک، شرایط غرقابی، کلروز و مقاومت به ویروس، نسبت به پایه‌های دیگر بیشتر مورد توجه اصلاحگران قرار گرفته است (نظری‌مقدم آقای[3] و همکاران، ۲۰۱۳). استفاده از پایه‌های کوتاه کننده گیلاس به دلیل تولید درختان کوچک که هزینه‌های کارگری، سمپاشی، هرس، برداشت میوه و سایر عملیات زراعی در باغ را کاهش می‌دهد، از رونق زیادی برخوردار است (ناصری و همکاران، ۱۳۸۵)

روش کشت بافت، یک روش سریع با پتانسیل بالا در تولید گیاهان به شمار می‌رود و در عرصه‌های تولید محصولات کشاورزی نقش بزرگ و مهمی را بازی می‌کند (بات[4] و همکاران، ۲۰۱۵). این روش مهمترین تکنیک مورد استفاده برای تکثیر سریع غیرجنسی درختان میوه می‌باشد (صالحی جوزانی، ۱۳۸۷). استفاده از این روش در سال‌های اخیر، باعث حل بسیاری از مشکلات موجود در تکثیر رویشی ارقام و کلون‌های انجیر شده است (مصطفی[5] و همکاران، ۲۰۱۳). افزایش پرآوری شاخه موضوع پایه‌ای برای ریزازدیادی است و بیشتر مطالعات روی نوع محیط پایه، ترکیباتی که در محیط کشت استفاده می‌شوند و فاکتورهای محیطی درون شیشه‌ای متمرکز شده است. آزمایش‌ها نشان داده است که محیط کشت MS[6] نسبت به WPM[7] پرآوری گواوا را بیشتر تحریک می‌کند (شکافنده و خوشخوی، ۱۳۸۶). اگرچه تأثیر محیط‌های کشت بستگی شدید به ژنوتیپ گیاهی دارد، ولی در کل محیط MS بهترین محیط برای تکثیر اکثر درختان میوه می‌باشد (قنبری و همکاران، ۱۳۹۱). عکس العمل گیاهان و نوع ریزنمونه آنها به شرایط کشت بافت به دلیل برخورداری از ساختار ژنتیکی متفاوت و خاص گیاه و اثرات شرایط مختلف محیطی در بیان و تظاهر عمل ژن‌های خاص، متفاوت می‌باشد و مجموعه عوامل تأثیرگذار باعث عکس‌العمل خاص گیاه در جهت رشد و نمو می‌شود (اصغری و همکاران، ۱۳۹۱). غلظت و نوع قند انتخاب شده به نوع و سن ریزنمونه در حال رشد بستگی دارد مثلا جنین‌های بسیار جوان، به غلظت نسبتا بالایی از قند نیاز دارند (زارعی و همکاران، ۱۳۹۲).

مصطفی و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین تعداد شاخه‌ها در درخت انجیر را در محیط کشت MS مشاهده کردند. نوروزی و همکاران (۱۳۹۴) در بررسی اثر چهار محیط کشت WPM، DKW[8]، MS و QL[9] بر استقرار درون شیشه‌ای دو پایه پاکوتاه کننده سیب بومی نشان دادند که در مرحله استقرار بیشترین طول و تعداد برگ در هر ریزنمونه در محیط کشت پایه MS وجود داشت. جم‌زادفرد و همکاران (۱۳۹۱) اعلام کردند که محیط‌کشت MS حاوی FeEDDHA، باعث افزایش معنی‌داری در طول شاخه، تعداد شاخساره، تعداد برگ شد. محیط‌کشت‌های MS و NN[10] به ترتیب بهترین محیط کشت پایه برای تکثیر درون شیشه‌ای توت‌فرنگی، گزارش گردید (مظفری و بهرام‌نژاد، ۱۳۸۹). خسروی‌نژاد و همکاران (۱۳۹۲)، با مطالعه تأثیر نوع محیط کشت در کشت درون‌شیشه‌ای برخی ارقام به، نشان دادند که محیط کشت QL تغییریافته، بهترین تأثیر را در پرآوری این ژنوتیپ‌ها داشته و به عنوان محیط‌کشت پایه می‌تواند همراه با سایر تیمارها مورد استفاده قرار گیرد. مطالعات نشان داده است که پاسخ جنس، گونه و رقم‌های مختلف درختان به نوع محیط کشت، نوع و غلظت قندها متفاوت می‌باشد (زارعی و همکاران، ۱۳۹۲). از معروف ترین قندها که در کشت بافت استفاده می‌شود، می‌توان به ساکارز و گلوگز اشاره کرد. معمولاً در کشت درون شیشه‌ای از ساکارز با غلظت ۱ تا ۵ درصد استفاده می‌شود که نسبت به قندهای دیگر بهترین رشد برای ریزنمونه‌ها را به دنبال داشته است (گاچان[11]، ۲۰۱۲). یلدیرم[12] و همکاران (۲۰۱۱) در آزمایشی تأثیر منبع کربنی گلوکز، فروکتوز و ساکارز را با غلظت ۳۰ گرم بر لیتر در محیط کشت MS بر میزان پرآوری رقم Hacıhaliloğlu زردآلو بررسی کردند و نشان دادند که میزان پرآوری شاخه در ساکارز بهتر از گلوکز و فروکتوز بود. هارادا و مورای[13] (۱۹۹۶) گزارش کردند که

1. *Gisela 6*
2. *Prunus avium*
3. Nazary Moghaddam Aghaye
4. Butt
5. Mustafa
6. Murashige and Skoog
7. Woody Plant Medium
8. Driver and Kuniyuki Walnut
9. Quoirin and Lepoivre
10. Nitsch and Nitsch
11. Gauchan
12. Yildirim
13. Harada and Murai

در بین منابع کربنی فروکتوز، گلوکز، مالتوز و ساکارز که به منظور شاخه‌زایی در *Prunus mume* استفاده شده بود، بیشترین باززایی شاخه مربوطه به قند گلوکز بود. در پرآوری هلو، بیشترین تعداد ریشه و درصد ریشه‌زایی در تیمار سوربیتول بدست آمد (احمد[1] و همکاران، ۲۰۰۷). اکافور و اکزی[2] (۲۰۱۶) گزارش کردند که ساکارز ۳۰ گرم بر لیتر نسبت به سایر قندها بیشترین تأثیر را در پرآوری، طول شاخه، وزن تر و جوانه‌زنی در نخل روغنی داشت. نتایج نشان داده است که در پرآوری گونه‌های *Prunus*، فروکتوز و گلوگز مناسب‌ترین کربوهیدرات نسبت به ساکارز می‌باشند (چونگ و ان[3]، ۲۰۱۵).

با توجه به اهمیت پرآوری جهت تکثیر سریع و انبوه پایه گیزیلا ۶ و نقش مهم نوع محیط کشت و نوع و غلظت منبع کربنی در میزان پرآوری، پژوهش حاضر جهت بررسی تاثیر این عوامل بر میزان پرآوری پایه گیزیلا ۶ گیلاس طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر محیط کشت پایه، نوع و غلظت منبع کربنی بر میزان پرآوری پایه گیزیلا ۶، پژوهش حاضر در سال ۱۳۹۵ در آزمایشگاه کشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه انجام گردید. پایه‌های کشت بافت گیزیلا ۶ از شرکت اروم زیست تاک ارومیه تهیه و برای این پژوهش استفاده شدند. پژوهش حاضر در قالب دو آزمایش انجام گرفت.

آماده سازی و استقرار ریزنمونه

برای آماده‌سازی محیط‌های کشت، ابتدا محلول ذخیره هر محیط‌کشت به طور جداگانه براساس دستورالعمل موجود تهیه گردید. برای مثال در محیط کشت MS محلول ذخیره شامل محلول ذخیره نیترات و هالیدها با غلظت ۵۰ برابر تهیه شدند و به مقدار ۲۰ میلی‌لیتر از هر محلول ذخیره برای تهیه ۱۰۰۰ میلی‌لیتر محیط کشت استفاده شد. محلول ذخیره سولفات، ویتامین، آهن و PBMO هم در غلظت ۱۰۰ برابر غلظت نهایی محیط کشت تهیه و به مقدار ۱۰ میلی‌لیتر از هر محلول ذخیره برای تهیه ۱۰۰۰ میلی لیتر محیط کشت استفاده شد. محلول ذخیره آهن به صورت جداگانه در غلظت ۵۰ برابر تهیه و پس از تهیه در یک شیشه تیره رنگ در دمای ۴ درجه نگهداری شد و ۰/۰۲۵ میلی‌لیتر از محلول ذخیره BA با سمپلر به هر کدام از محیط‌های کشت اضافه گردید و سپس ۷/۵ گرم شکر و ۰/۰۲۵ گرم میواینوزیتول اضافه و سپس به حجم ۲۵۰ سی‌سی رسانده شد. بعد از به حجم رساندن، pH محیط کشت در حد ۵/۶ تنظیم و حدود ۱/۳۷۵ گرم آگار ریخته در مایکروفر حل شد و ۴۰ میلی لیتر به هر شیشه توزیع و سپس در اتوکلاو به مدت ۲۰ دقیقه با ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. بعد از آماده شدن محیط کشت، ریزنمونه‌ها در اتاق انتقال زیر هود لامینار کشت شدند. در این مرحله جوانه‌های انتهایی از نمونه‌های کشت بافتی داخل شیشه از گیزیلا ۶ تهیه شد. قبل از کار در زیر هود لامینار با الکل ۹۶٪ تمام شیشه‌های مورد نیاز همراه با وسیله‌های مورد استفاده ضدعفونی شدند. سپس ۵ ریزنمونه در هر تکرار کشت و تاریخ کشت و نوع تیمار بر روی شیشه‌ها نوشته شد و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، با نور ۲۰۰۰ لوکس و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

آزمایش اول: نوع محیط کشت

در آزمایش اول اثر چهار محیط‌کشت پایه شامل MS، VS، QL و NN که هر کدام شامل ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP بودند، بر میزان پرآوری پایه گیزیلا ۶ در قالب طرح آماری کاملا تصادفی با ۵ تکرار بررسی شد. صفات مورد ارزیابی (طول شاخساره (برحسب سانتی‌متر)، تعداد گره، تعداد شاخساره، وزن‌تر (بر حسب گرم)، وزن خشک (بر حسب گرم)، طول میانگره (برحسب سانتی‌متر)، تعداد برگ) پس از ۴ هفته کشت، یادداشت برداری و مورد تجزیه واریانس و مقایسه میانگین قرار گرفتند.

آزمایش دوم: نوع و غلظت کربوهیدرات

در آزمایش دوم اثر نوع قند در ۴ سطح (ساکارز، گلوکز، فروکتوز و سوربیتول) و غلظت قند در ۳ سطح (۱۵، ۳۰ و ۴۵ گرم در لیتر) بر میزان پرآوری ریز نمونه نوک شاخساره گیزیلا ۶ در محیط کشت MS که حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BAP بود، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملا تصادفی در ۵ تکرار بررسی شد. در این آزمایش نیز صفات ارزیابی شده در آزمایش اول مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. شرایط محیط نگهداری ریزنمونه‌های کشت شده

1. Ahmad
2. Okafor and Okezie
3. Cheong and An

همانند آزمایش اول بود.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها و نرم‌افزارهای مورد استفاده

داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار کامپیوتری SAS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده گردید. برای رسم نمودار از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

۱- اثرات نوع محیط کشت در میزان پرآوری

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع محیط‌کشت در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان طول شاخساره ریزنمونه‌های پایه گیزیلا ۶ معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین طول شاخساره با میانگین ۱/۷۸ سانتی‌متر در محیط کشت MS و کمترین طول با میانگین ۱/۳۷ سانتی‌متر در محیط NN که حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA بودند، مشاهده شد (نمودار ۱).

تفاوت در طول شاخساره‌ها در محیط‌های مختلف می‌تواند به دلیل متفاوت بودن عناصر تشکیل‌دهنده محیط کشت‌ها باشد. با توجه به اینکه محیط‌های کشت مختلف از نظر نوع و غلظت بعضی از املاح و ترکیبات با یکدیگر متفاوت می‌باشند، بنابراین رشد و نمو ریزنمونه‌های مستقر شده روی این محیط‌ها با یکدیگر متفاوت خواهد بود. رشد بهتر اندام‌های هوایی در محیط‌کشت MS می‌تواند به دلیل وجود مقادیر زیاد نیتروژن بویژه نیترات و همچنین توازن بهتر عناصر محیط MS نسبت به محیط‌های دیگر باشد (بلندی و همکاران، ۱۳۹۵). مطابق با این موضوع مهدویان[1] و همکاران (۲۰۱۱) اعلام کردند که محیط MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP نسبت به محیط‌های QL بیشترین تأثیر را بر ریزازدیادی پایه هیبرید PHL-A که از تلاقی *Prunus avium* × *Prunus cerasus* به دست آمده است، داشت. همچنین سعادت[2] و همکاران (۲۰۱۲) اعلام کردند که میانگین طول شاخساره اصلی ریزنمونه‌های کشت شده روی محیط کشت MS به طور معنی‌داری بلندتر از ریزنمونه‌های کشت شده در محیط‌های کشت دیگر بود.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تأثیر نوع محیط کشت در سطح احتمال ۵ درصد بر تعداد شاخساره معنی‌دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ۴/۸۸ در محیط‌کشت VS و کمترین تعداد با میانگین ۲/۶۸ در محیط NN که حاوی ۱ میلی‌گرم بر لیتر BA بودند، به دست آمد (نمودار ۲). بین محیط‌های کشتVS، QL و MS هیچ تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. مشخص شده است که با جایگزین شدن FeEDTA با FeEDDHA در محیط کشت MS که به آن VS می‌گویند، میزان رشد شاخه‌ها و میزان کلروفیل افزایش می‌یابد (جم زادفرد و همکاران ۱۳۹۱). در پرآوری تمشک زمانیکه از محیط کشت پایه MS حاوی FeEDDHA استفاده شد، مشاهده شد که میزان شاخه‌های جانبی و کلروفیل افزایش یافت (زاودزکا و ارلی ائوزکه[3]، ۲۰۰۶). کاستله[4] و همکاران (۱۹۹۷) اعلام کردند که استفاده از FeEDDHA در محیط MS به جای FeEDTA باعث بیشتر شدن تعداد شاخه‌های جانبی و میزان کلروفیل در گیاه پاپایا می‌شود. پاسخ گونه‌ها به نوع محیط‌کشت، بستگی به نوع ژنوتیپ درخت دارد. این موضوع به اثبات رسیده است که درکشت بافت گیاهی، شرایط متعدد و پیچیده‌ای تأثیرگذار هستند که از آنها می‌توان به ژنوتیپ گیاه، نوع ریزنمونه، ترکیب هورمونی محیط کشت و شرایط محیطی اشاره کرد (جم زادفرد و همکاران، ۱۳۹۱).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع محیط کشت بر میزان وزن تر شاخساره‌های پایه گیزیلا ۶ در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول۱). طبق مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین وزن تر شاخساره با میانگین ۵/۲۸ گرم در محیط QL و کمترین وزن‌تر با میانگین ۳/۰۴ گرم در محیط MS بدست آمد. بین محیط‌های MS، NN و VS تفاوت معنی‌داری از نظر میزان وزن تر شاخساره‌ها مشاهده نشد (نمودار۳). نوروزی و همکاران (۱۳۹۴) بیشترین درصد زنده‌مانی و بهترین کیفیت ظاهری رشد ریزنمونه را در محیط کشتQL پایه بدست آوردند. به گزارش فرایر[5] و همکاران (۲۰۰۲)، استفاده از محیط کشت QL در ریزازدیادی گلابی رقم روکا موجب افزایش میزان نمو و وزن

1. Mahdavian
2. Saadat
3. Zawadzka and Orlikowska
4. Castillo
5. Freire

نوشاخه‌ها شد و همچنین آنها گزارش کردند که غلظت بالای BAP موجب افزایش تعداد شاخه شده و محیط QL در مقایسه با محیط MS موجب توسعه برگ ریز نمونه‌ها و افزایش وزن تر و خشک آنها شده است.

طبق نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین وزن خشک با میانگین ۱/۴۸ گرم در محیط کشت QL و کمترین وزن با میانگین ۰/۲۳ گرم در محیط MS مشاهده گردید. در محیط‌های کشت‌های NN، VS و QL از نظر تأثیر بر میزان وزن خشک نمونه‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۴). مطابق با همین موضوع حاجی نجاری و همکاران (۱۳۸۷) گزارش کردند که منابع مختلف نیتروژنی بر خصوصیات رشدی شاخساره‌های درون شیشه‌ای گیلاس وحشی تأثیر دارد و طی مراحل نمو و تشکیل اندام جهت رسیدن به رشد بهینه بسته به گونه، مقدار معینی نیتروژن مورد نیاز است که حدود ۲ تا ۵ درصد از وزن خشک گیاهی را تشکیل می‌دهد و زمانی که مقدار آن زیر سطح بهینه باشد، رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش مقدار نیتروژن نه تنها بر رشد اثر دارد بلکه بر الگوی اصلی هر یک از صفات مورفولوژیک گیاه نیز تأثیر می‌گذارد، زیرا نیتروژن جزء ساختمانی آمینواسیدها، آمیدها و بازهای تشکیل دهنده اسیدهای نوکلئیک است. محیط‌های کشت مختلف به دلیل وجود ترکیبات و منابع مختلف نیتروژنی می‌توانند تأثیرات متفاوتی را بر میزان شاخص‌های رشدی داشته باشند. در پرآوری گلابی، میانگین وزن خشک بیشتری در محیط کشت QL نسبت به محیط کشت MS به دست آمد (بل[1] و همکاران، ۲۰۰۹). به گزارش فرایر و همکاران (۲۰۰۲) استفاده از محیط کشت QL در ریزازدیادی گلابی، موجب افزایش میزان نمو و وزن تر و خشک نوشاخه‌ها شد.

بلندترین طول میانگره با میانگین ۰/۳۷ سانتی‌متر در محیط کشت QL و کمترین طول میانگره با میانگین ۰/۲۳ سانتی‌متر در محیط کشت NN مشاهده شد. بین محیط‌های کشت MS، QL و VS تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (نمودار ۵). مطابق با نتایج حاضر، در گلابی بیشترین طول میانگره در محیط کشت QL تغییر یافته مشاهده شده است (خدایی‌چنگی و همکاران، ۱۳۹۰). به نظر می‌رسد که بخشی از برتری محیط QL نسبت به MS در ارتباط با کلسیم است. افزایش سطح کلسیم در محیط‌های پایه QL و QL تغییر یافته نسبت به محیط پایه MS وجود دارد که شاید این موضوع باعث برتری این محیط کشت نسبت به محیط‌های کشت دیگر بر صفت طول میانگره‌ها باشد (عبدالهی و همکاران، ۲۰۰۶). تفاوت در واکنش ژنوتیپ‌ها در محیط کشت درون‌شیشه همانند رفتار آنها در پاسخ به محرک‌های محیط طبیعی، تحت تأثیر ژنتیک است، به طوری که توان تولید یک ژنوتیپ در محیط درون‌شیشه ممکن است همبستگی مستقیم با توان تولید آن در شرایط طبیعی نداشته باشد. در گلابی رقم سردرودی مشاهده شده است که محیط کشت QL بیشترین تأثیر را برمیزان رشد شاخساره و طول میانگره داشته است (بختیاری همکاران، ۱۳۹۵).

اثرات نوع و غلظت کربوهیدرات بر پر آوری

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع و غلظت قند در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵ درصد بر میزان طول شاخساره ریزنمونه‌های گیزیلا ۶ معنی‌دار بود (جدول۲). طبق مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بیشترین طول شاخساره با ۲/۴۶ سانتی‌متر در محیط کشت حاوی ۱۵ گرم بر لیتر فروکتوز و کمترین طول شاخساره (۱/۱۶۹سانتی‌متر) در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم بر لیتر سوربیتول مشاهده شد (نمودار۶). برای قند فروکتوز و سوربیتول بیشترین طول شاخساره در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر و برای قندهای گلوگز و ساکارز بیشترین طول شاخساره در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر مشاهده شد، با این که مصرف ۱۵ گرم فروکتوز تأثیر بیشتری نسبت به قندهای دیگر بر رشد طول شاخساره داشته است ولی با افزایش میزان غلظت فروکتوز میزان رشد شاخساره‌ها نیز کاهش یافت. بعد از فروکتوز، گلوگز ۳۰ گرم بر لیتر تأثیر بیشتری بر میزان رشد طول شاخساره داشت. ابوریا[2] و همکاران (۲۰۱۱) تأثیر قندهای ساکارز، گلوگز و فروکتوز را روی بادام آزمایش کردند و نشان دادند که بیشترین طول شاخساره مربوط به قند گلوگز بود. در انجیر تأثیر قند فروکتوز به طور معنی‌داری بیشتر از قند ساکارز بود (مصطفی و همکاران، ۲۰۱۳). همچنین ایلجاک و همکاران (۲۰۱۳) بیشترین طول شاخساره *Physocarpus opulifolius* را در محیط کشت فروکتوز مشاهده کردند که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت.

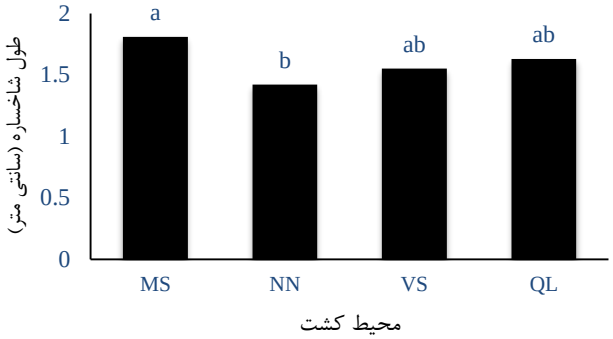
1. Bell

2. Abou Rayya

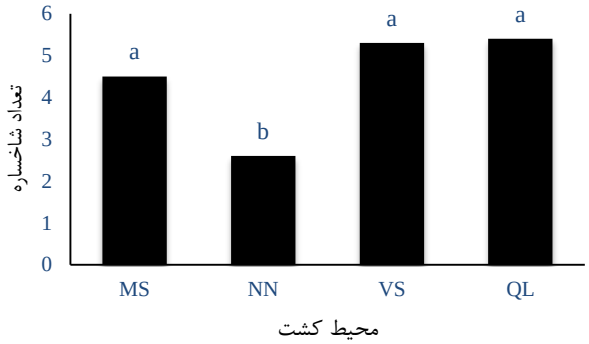
جدول۱- تجزیه واریانس اثر محیط‌های کشت مختلف بر برخی شاخص‌های اندازه‌گیری شده در گیاهچه‌های پایه گیزیلا ۶

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات(MS)						
		طول شاخساره	تعداد گره	تعداد شاخساره	وزن تر	وزن خشک	طول میانگره	تعداد برگ
نوع محیط کشت	۳	۰/۱۵۸*	۰/۱۸۸^{ns}	۵/۲۴*	۵/۰۵۲**	۱/۵۵۱**	۰/۰۷۱**	۷/۵۲۰^{ns}
خطای آزمایش	۱۶	۰/۰۵۲	۰/۸۰۱	۰/۸۶	۰/۶۲۷	۰/۰۶۵	۰/۰۰۲	۳/۱۹۹
ضریب تغییرات (درصد)		۱۴/۹۹۰	۱۸/۵۸۰	۲۲/۲۲	۲۰/۷۱۶	۲۴/۷۷۲	۱۳/۴۶۳	۱۸/۵۶۲

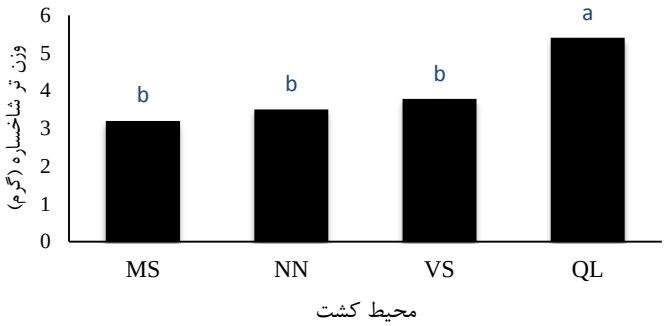
ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد



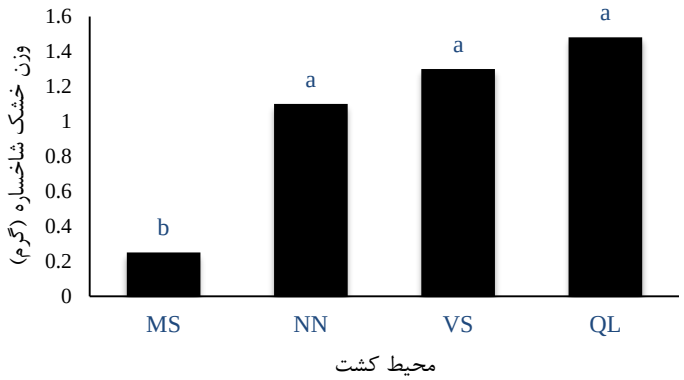
نمودار ۱- مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر صفت طول شاخساره. حروف غیرمشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



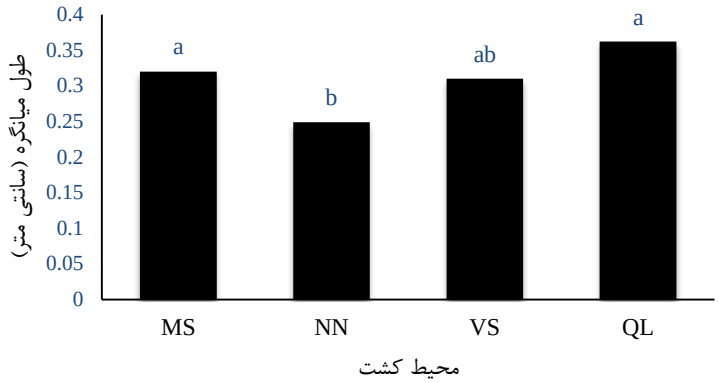
نمودار ۲- مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر صفت تعداد شاخساره. حروف غیرمشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



نمودار ۳- مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر صفت وزن‌تر شاخساره ریزنمونه‌های کشت شده گیزیلا ۶. حروف غیرمشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



نمودار۴- مقایسه میانگین تأثیر محیط‌های کشت مختلف بر صفت وزن خشک. حروف غیرمشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.



نمودار۵- مقایسه میانگین تأثیر نوع محیط‌های کشت بر صفت طول میانگره شاخساره‌های. حروف غیرمشابه روی ستون‌ها نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن می‌باشد.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که نوع قند در سطح احتمال ۵ درصد و غلظت قند در سطح احتمال ۱ درصد بر تعداد گره در ریزنمونه‌های گیزیلا ۶ معنی‌دار بود. (جدول ۲). بیشترین تعداد گره مربوط به قند ساکارز و کمترین آن مربوط به قند سوربیتول بود (نمودار ۷). همانطور که در نمودار ۸ نشان داده شده است، بیشترین تعداد گره در غلظت ۱۵ گرم بر لیتر بدست آمد. با افزایش غلظت قند، تعداد گره به طور معنی‌داری کاهش یافت ولی بین ۳۰ و ۴۵ گرم بر لیتر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج برخی مطالعات نشان داده است که در گل کوکب، ساکارز با غلظت ۳۰ گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را در پرآوری داشت (ال‌میزوری[1]، ۲۰۱۳). ال‌ختیب[2] و همکاران (۲۰۰۸) اعلام کردند که در خرما با افزایش غلظت ساکارز تعداد جوانه بیشتری مشاهده شد. موسالیانو ن[3] و همکاران (۲۰۰۴) اعلام کردند حضور ساکارز در محیط کشت برای رشد اولیه و مورفوژنز جوانه و برگ ضروری می‌باشد. پاتی[4] و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که ساکارز بیشترین تأثیر را در پرآوری دارد. سانتانا[5] و همکاران (۲۰۱۱) نیز در *Annona* بیشترین طول تعداد جوانه را در محیط حاوی قند ساکارز بدست آورند.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع و غلظت قند در سطح احتمال ۱ درصد و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۵ درصد بر تعداد شاخساره در پایه گیزیلا ۶ معنی‌دار بود. بیشترین تعداد شاخه (۶/۴۸ سانتی متر) در محیط کشت حاوی ۴۵ گرم بر لیتر گلوگز و کمترین تعداد شاخه (۱/۰۸سانتی‌متر) در محیط کشت حاوی ۱۵گرم بر

1. AL-Mizory
2. Al-Khateeb
3. Mosaleeyanon
4. Pati
5. Santana

لیتر فروکتوز مشاهده شد (نمودار ۹). برای قند فروکتوز و سوربیتول بیشترین تعداد شاخساره در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر و برای قندهای ساکارز و گلوگز بیشترین تعداد شاخساره در غلظت ۴۵ گرم بر لیتر مشاهده شد. قند سوربیتول کمترین تأثیر را در پر آوری پایه گیزیلا ۶ داشت. ابوریا و همکاران (۲۰۱۱) گزارش دادند که گلوگز ۳۰ گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را در پرآوری بادام داشت. ساکارز نسبت به قندهای دیگر بیشترین تأثیر را در پرآوری گلابی داشت (کاتدودا و نیمی[1]، ۲۰۰۴). شفیعی حاجی‌آباد و همکاران (۱۳۸۴) با مطالعه پرآوری سرخس اعلام کردند که اثر غلظت‌های ساکارز بر تعداد شاخساره در مرحله پرآوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. از آنجا که شاخساره‌های به کار رفته برای مرحله پرآوری، گیاهک‌های کوچک و جوان به طول ۷ـ۳ میلی‌متر بوده و حداکثر دارای ۲ تا ۴ برگ بودند، این شاخساره‌ها کاملا هتروتروف بوده و توانایی فتوسنتز ندارند از این جهت به قند (ساکارز) به کار رفته در محیط‌کشت جهت تقسیم و توسعه سلولی نیازمندند. احتمالاً میزان ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز غلظت مناسب‌تری از قند را برای تقسیم سلولی فراهم می‌سازد. نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر با نتایج سایر محققین مطابقت داشت. سعادت و همکاران (۲۰۱۲) بیشترین میزان تعداد شاخساره در ریزنمونه‌های گلابی را در محیط کشت‌های دارای ۳۰ گرم در لیتر گلوگز مشاهده کردند با این حال میانگین تعداد شاخساره در هر ریزنمونه در غلظت ۴۰ گرم در لیتر گلوکز نسبت به ۳۰ گرم در لیتر به طور معنی‌داری بیشتر بود.

طبق مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بیشترین وزن تر (۶/۵۶ گرم) در محیط کشت حاوی ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز و کمترین وزن تر (۱/۷۲ گرم) در محیط کشت حاوی ۱۵ گرم بر لیتر سوربیتول مشاهده شد (نمودار ۱۰). قند سوربیتول نسبت به سایر قندها کمترین تاثیر را بر میزان وزن‌تر شاخساره‌های گیزیلا ۶ داشت. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تأثیر نوع و غلظت قند و اثر متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر میزان وزن خشک شاخساره‌های گیزیلا ۶ معنی‌دار بود. طبق مقایسه میانگین داده‌ها مشخص شد که بیشترین وزن خشک شاخساره‌ها (۰/۵۷گرم) در محیط کشت حاوی ۴۵ گرم بر لیتر گلوگز و کمترین وزن خشک (۰/۱۳۹گرم) در محیط کشت حاوی ۱۵ گرم بر لیتر سوربیتول مشاهده شد (نمودار ۱۱). برای قند فروکتوز، گلوکز و سوربیتول بیشترین وزن خشک در غلظت ۴۵ گرم بر لیتر و برای قند ساکارز بیشترین وزن خشک در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر مشاهده شد. نشان داده شد که با افزایش غلظت قند میزان رشد نیز افزایش می‌یابد ولی اگر غلظت قند از حد بهینه افزایش یابد در میزان رشد تأثیر منفی گذاشته و رشد کاهش می‌یابد. مطابق با این موضوع، ابوریا و همکاران (۲۰۱۱) گزارش کردند که گلوگز ۳۰ گرم بر لیتر بیشترین تأثیر را در میزان وزن‌تر بادام داشت. پرز[2] و همکاران (۲۰۰۰) اعلام کردند برای پرآوری درخت توت، ساکارز و گلوگز بهترین کربوهیدرات هستند. در بادام تلخ، نوع (ساکارز، گلوکز و فروکتوز) و غلظت منبع کربنی (۱۰،۲۰،۳۰ و۴۰ گرم بر لیتر) مورد مقایسه قرارگرفت و نشان داده شد که گلوگز ۳۰ گرم بر لیتر بیشترین اثر را در تعداد شاخه، طول شاخه و وزن تر شاخساره داشت ولی ساکارز در تولید گیاهان سالمتر، موثرتر از گلوکز و فروکتوز بود (ابوریا و همکاران، ۲۰۱۱). اثر غلظت‌های ساکارز بر تعداد شاخساره، وزن تر و خشک اندام‌های هوایی سرخس تولید شده در مرحله پرآوری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود، اما بر طول شاخساره اثر معنی‌دار نداشت. در غلظت ۳۰ گرم در لیتر ساکارز به طور میانگین ۱۳/۵ شاخساره و با میانگین وزن تر ۰/۴۲۱ گرم و وزن خشک ۰/۰۹۱ گرم تولید شد که از غلظت ۲۰ گرم در لیتر ساکارز با تولید میانگین ۵/۸ شاخساره با وزن تر ۰/۲۱۴ گرم و وزن خشک ۰/۰۶۶ گرم بیشتر بود (شفیعی حاجی‌آباد و همکاران، ۱۳۸۴).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که نوع قند در سطح احتمال ۱ درصد بر طول میانگره شاخساره‌های گیزیلا ۶ معنی‌دار بود ولی اثر غلظت قند و اثر متقابل نوع و غلظت قند بر میزان طول میانگره معنی‌دار نبود (جدول۲). مقایسه میانگین تأثیر غلظت قند بر طول میانگره نشان داد که بیشترین طول میانگره مربوط به قند فروکتوز و کمترین آن مربوط به قند ساکارز بود (نمودار ۱۲). یو و رید[3] (۱۹۹۳) اعلام کردند که تکثیر شاخساره فندق در شرایط درون شیشه‌ای با استفاده از گلوکز به عنوان منبع کربوهیدراتی، بهبود می یابد و گیاهان رشد کرده در محیط

1. Kadota and Niimi

2. Pérez
3. Yu and Reed

کشت حاوی ۳ درصد گلوکز یا فروکتوز بیشترین و طویل ترین شاخساره را نسبت به ساکارز تولید کردند. ظاهری و همکاران (۱۳۹۲) بیشترین رشد طولی انگور را در فروکتوز ۳۰ گرم بر لیتر بدست آوردند که با نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر مطابقت داشت.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر نوع قند در سطح احتمال ۵ درصد و غلظت قند در سطح احتمال ۱ درصد بر تعداد برگ گیزیلا ۶ معنی‌دار بود. اثر متقابل نوع قند در غلظت قند بر تعداد برگ معنی‌دار نبود (جدول ۲). مقایسه میانگین تأثیر غلظت قند بر تعداد برگ نشان داد که بیشترین تعداد برگ مربوط به قند ساکارز و کمترین مقدار مربوط به قند سوربیتول بود (نمودار ۱۳) همانطور که در نمودار ۱۴ نشان داده شده است، بیشترین تأثیر غلظت قند بر تعداد برگ مربوط به غلظت ۱۵ گرم بر لیتر بود و با افزایش غلظت قند، تعداد برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت. ال‌ختیب (۲۰۰۸) گزارش کردند که در خرما با افزایش غلظت ساکارز تعداد برگ‌ها افزایش می‌یابد که این نتایج با پژوهش حاضر همخوانی نداشت. دبنات (۲۰۰۵)، در پرآوری برخی پایه‌های انگور با غلظت‌های ۱۰، ۲۰ و ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز، مشاهده کرد که با افزایش غلظت ساکارز از ۱۰ به ۲۰ گرم بر لیتر تعداد برگ‌ها افزایش می‌یابد ولی زمانی که غلظت به ۳۰ گرم بر لیتر می‌رسد تعداد برگ کاهش می‌یابد. در این پژوهش نیز مشخص شد که با افزایش غلظت قند تعداد برگ به طور معنی‌داری کاهش یافت.

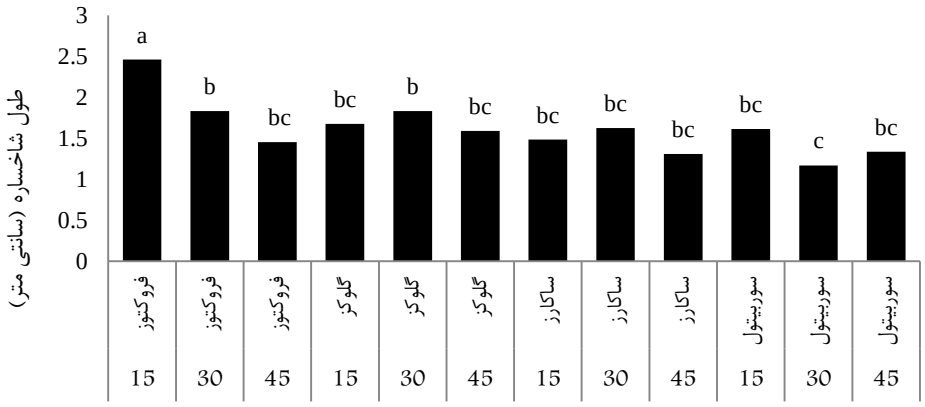
نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش اول مشخص شد که محیط کشت MS با ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP به دلیل ارزان‌تر بودن نسبت به سایر محیط‌ها و بیشتر بودن طول شاخساره که صفت مهمی در پرآوری می‌باشد، برای پرآوری ایـن پایـه مناسب‌تر از محیط‌های کشت VS، QL و NN می‌باشد. با توجه به نتایج به دست آمده از آزمایش دوم مشخص شد که غلظت۳۰ گرم بر لیتر گلوکز و ساکارز بیشترین تأثیر را در تعداد شاخه داشت و با افزایش غلظت قند به ۴۵ گرم بر لیتر یکسری ناهنجاری‌های فیزیولوژیکی در پرآوری گیزیلا ۶ رخ داد. پیشنهاد می‌گردد برای داشتن باغ‌های یکنواخت درختان میوۀ هسته‌دار و ازدیاد موفق درون‌شیشه‌ای این پایه از نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر استفاده شود و پژوهش‌های تکمیلی برای افزایش میزان پرآوری و تکثیر سریع‌تر و راحتر این پایه انجام گیرد.

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر نوع و غلظت قند و اثر متقابل آنها بر برخی صفات مورد ارزیابی در پایه گیزیلا ۶

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات MS						
		طول شاخساره	تعداد گره	تعداد شاخساره	وزن تر	وزن خشک	طول میانگره	تعداد برگ
نوع قند	۳	۰/۸۹۱**	۲/۲۴۲*	۱۰/۳۹۷**	۲۴/۸۵۶**	۰/۲۲۹**	۰/۲۲۴**	۸/۹۷۰*
غلظت قند	۲	۰/۷۴۳**	۶/۶۷۸**	۹۵/۶۱۴**	۲۸/۶۱۵**	۰/۲۶۳**	۰/۰۰۶^{ns}	۲۶/۷۱۳**
نوع*غلظت	۶	۰/۳۳۲*	۱/۱۲۴^{ns}	۳/۰۶۲*	۶/۳۲۴**	۰/۰۳۸**	۰/۰۰۴^{ns}	۴/۴۴۹^{ns}
خطای آزمایش	۴۸	۰/۱۴۳	۰/۷۶۴	۱/۱۸۷	۰/۹۸۷	۰/۰۰۵	۰/۰۰۴	۳/۰۵۸
ضریب تغییرات (درصد)		۲۳/۴۰	۱۵/۵۳۲	۲۷/۱۴۲	۲۶/۷۵۴	۲۱/۱۲۸	۲۲/۳۶۵	۱۵/۵۳۱

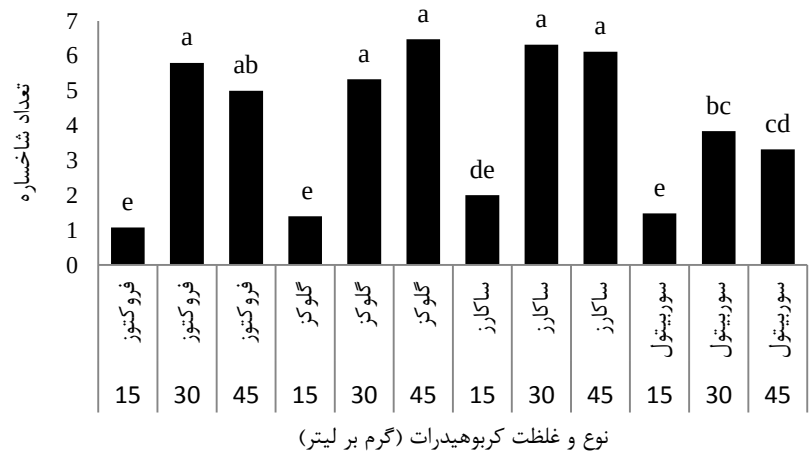
ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد و معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد



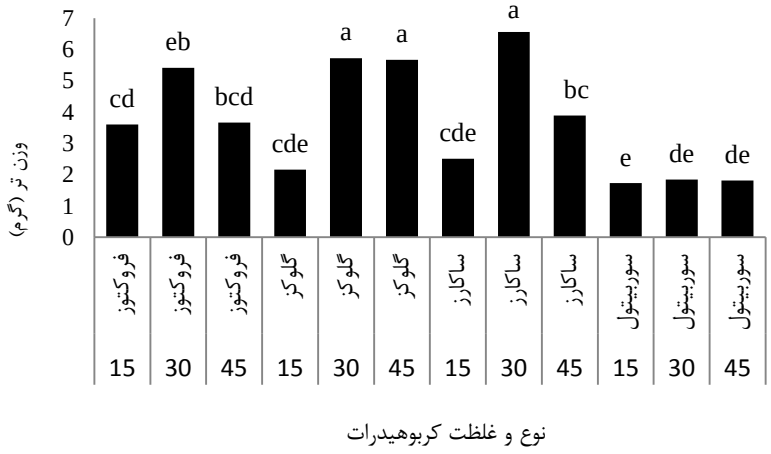
نمودار۶- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت قند بر طول شاخساره گیاهچه‌های گیزیلا ۶. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.

نمودار۷- مقایسه میانگین تأثیر نوع قند بر تعداد گره در ریزنمونه‌های پایه گیزیلا ۶. ستون‌های با حروف‌های مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه دانکن را ندارند.

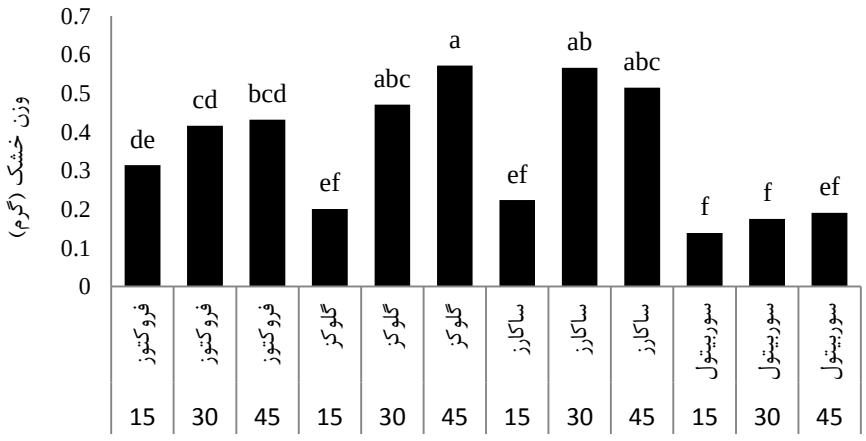
نمودار ۸- مقایسه میانگین تأثیر غلظت قند بر تعداد گره در گیاهچه‌های گیزیلا ۶. ستون‌های یا حروف‌های مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه دانکن را ندارند.



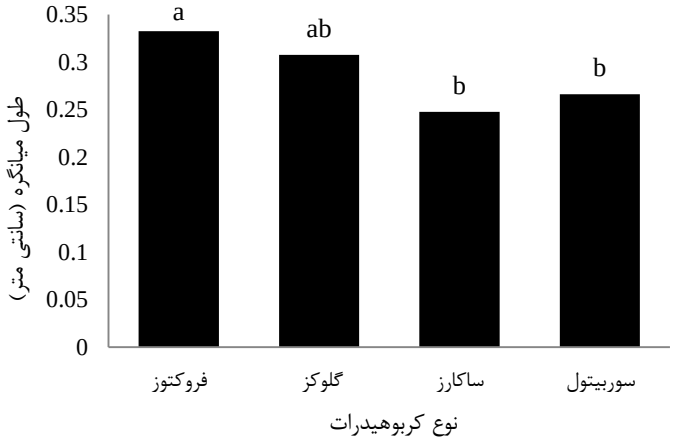
نمودار۹- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت قند بر تعداد شاخساره در ریز نمونه‌های کشت شده گیزیلا ۶، ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.



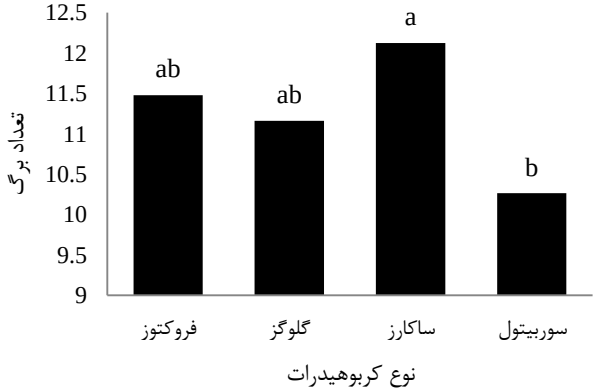
نمودار ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت قند بر وزن تر گیاهچه‌های گیزیلا ۶، ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.



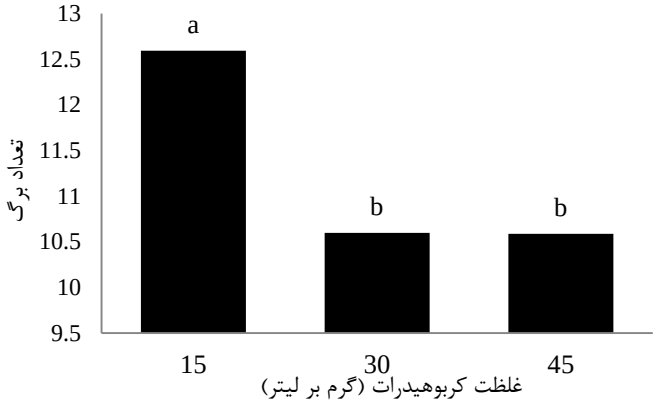
نمودار ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل نوع و غلظت قند بر وزن خشک گیاهچه‌های گیزیلا ۶. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن ندارد.



نمودار ۱۲- مقایسه میانگین تأثیر غلظت قند بر طول میانگره در گیاهچه‌های گیزیلا ۶، ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه دانکن ندارند.



نمودار ۱۳- مقایسه میانگین تأثیر نوع قند بر تعداد برگ در گیاهچه‌های گیزیلا ۶. ستون های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون چند دامنه دانکن را ندارند.



نمودار۱۴- مقایسه میانگین تأثیر غلظت قند بر تعداد برگ در گیاهچه‌های گیزیلا ۶. ستون‌های با حروف مشترک تفاوت معنی‌داری از لحاظ آماری در سطح احتمال ۱ درصد براساس آزمون چند دامنه دانکن ندارند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از کلیه کارکنان آزمایشگاه کشت بافت علوم باغبانی دانشگاه ارومیه که در انجام این تحقیق همکاری کردند و همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه به سبب تأمین هزینه‌ها تشکر و قدردانی می شود.

منابع

اصغری، ف.، حسینی، ب.، حسنی، ع.، اصغری، م.ر. و فرخی، ج. ۱۳۹۱. بررسی اثرات ترکیبات مختلف هورمونی بر میزان باززایی مستقیم شاخساره در شرایط درون‌شیشه‌ای ریحان (*Osmium basilicum* L.). مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۴ (۲): ۱-۱۵.

بختیاری، ف.، مظفری، ج. و عبداللهی، ح. ۱۳۹۵. بررسی رشد، تکثیر و ریشه‌زایی ارقام مختلف گلابی بومی ایران به منظور حفاظت درون شیشه‌ای. مجله بیوتکنولوژی کشاورزی، ۸ (۴): ۱۷-۳۴.

بلندی، ا.ر.، حمیدی، ح. و رضا قلی، ع.ا. ۱۳۹۵. تأثیر محیط کشت و هورمون بر تکثیر پایه رویشی GF677 در کشت درون شیشه‌ای. مجله پژوهش‌های گیاهی، ۲۹ (۱): ۱-۱۴.

تاتاری، م.، دژم پور، ج. و موسوی، س.ا. ۱۳۹۳. ازدیاد درون‌شیشه‌ای تعدادی از پایه‌های امید بخش حاصل از تلاقی‌های بین گونه‌ای هسته داران. مجله به زراعی نهال و بذر، ۳۰ (۳): ۲۴۱-۲۵۲.

جم‌زادفرد، م.، موسوی، م. و غفاریان‌مقرب، م. ۱۳۹۱. بررسی تأثیر نانو ذرات اکسیدآهن بر پرآوری شاخساره و ریشه‌زایی رز مینیاتوری در شرایط کشت بافت. اولین کنفرانس ملی راهکارهای دستیابی به توسعه پایدار در بخش‌های کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست، وزارت کشور، تهران.

حاج نجاری، ح.، حسنلو، ط.، هوشمند اصغری، ا. و ایزدپناه، م. ۱۳۸۷. اثر منابع مختلف نیتروژنی بر خصوصیات رشدی شاخساره-های درون‌شیشه‌ای یک ژنوتیپ انتخابی گیلاس وحشی (*Prunus avium* L.). مجله به‌نژادی نهال و بذر، ۲۴ (۴): ۷۴۹-۷۶۲.

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

خسروی‌نژاد، ف.، عبداللهی، ح.، صالحی، ز. و آذرآبادی، س.ر. ۱۳۹۲. بررسی ریزازدیادی درون‌شیشه‌ای برخی از ارقام به (*Cydonia oblonga*). هشتمین همایش بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران و چهارمین همایش ملی امنیت زیستی، انجمن بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران، دانشگاه تهران، تهران.

زارعی، م.، گروسی، ق.، نظامی، ا.، حسینی، ر. و احمدی، ج. ۱۳۹۲. تأثیر محیط کشت، منبع کربن و طیف نور در نو ساقه‌زایی و شیوه تیمار اکسین در ریشه‌زایی پایه رویشی *Gisela 6*. مجله سلول و بافت، ۴ (۲): ۱۶۹- ۱۸۵.

شفیعی حاجی‌آباد، م.، حمیداوغلی، ی. و فتاحی مقدم، ج. ۱۳۸۴. اثر غلظت نمک‌های معدنی MS، ساکارز و بنزیل آدنین بر پرآوری ریزنمونه‌های شاخساره سرخس بوستونی. چهارمین کنگره علوم باغبانی، دانشگاه فردوسی، مشهد.

شکافنده، ا. و خوشخوی، م. ۱۳۸۶. عوامل موثر بر کشت درون‌شیشه‌ای دو رقم از درختان بالغ گواوا (*Psidium guajava* L.). مجله علوم و فنون باغبانی ایران، ۸ (۲): ۱۲۵-۱۳۶.

صالحی جوزانی، غ.ر. ۱۳۸۷. بیوتکنولوژی (فناوری زیستی) و اهمیت آن در کشاورزی. کمیته ترویج و ارتباطات ستاد زیست فناوری کشور، ۳۵ ص.

ظاهری، ص.، مظفری، ع. ا. کوشش صبا، م. و گوران، ع. ۱۳۹۲. اثر کربوهیدرات فروکتوز بر باززایی و پرآوری دو رقم انگور، اولین همایش سراسری کشاورزی و منابع طبیعی پایدار. تهران. موسسه آموزش عالی مهراروند.

قنبری، ع.، آتشکار، د.، شرفی، ی. و حق جویان، ر.ا. ۱۳۹۱. تأثیر نوع محیط کشت در پرآوری شاخساره پایه‌ی سیب بومی آزایش اصفهان به روش درون‌شیشه‌ای. سومین همایش ملی بیوتکنولوژی کشاورزی ایران (گیاهی، دامی و صنعتی)، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد.

مظفری، ع.ا. و بهرام نژاد، ب. ۱۳۸۹. تأثیر محیط کشت و ترکیبات هورمونی روی پرآوری شاخساره حاصل از کشت مریستم و تغییرات مورفولوژیکی در مری‌کلون‌های دو رقم توت‌فرنگی. فنآوری زیستی در کشاورزی، ۹: ۱۷-۲۸.

ناصری، ل.، جلیلی‌مرندی، ر. و قدیم‌زاده. م. ۱۳۸۵. مطالعه خصوصیات گیاه‌شناسی، فیزیولوژیکی و فنولوژیکی پایه سیب گمی آلماسی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ۵۷ص.

نوروزی، ز.، وطن پور ازغندی، ع. و حاج نجاری، ح. ۱۳۹۴. اثرات نوع محیط کشت پایه بر استقرار درون شیشه‌ای دو پایه پاکوتاه کننده سیب بومی. اولین همایش بین المللی و نهمین همایش ملی جمهوری اسلامی ایران، مرکز همایش‌های بین المللی دانشگاه شهید بهشتی، تهران.

Abdollahi, H., Muleo, R. and Rugini, E. 2006. Optimisation of regeneration and maintenance of morphogenic callus in pear (*Pyrus communis* L.) by simple and double regeneration techniques. Scientia Horticulturae, 108(4): 352-358.

Abou Rayya, M.S., Kassim, N.E. and Ali, E.A.M. 2011. Effect of different cytokinins concentrations and carbon sources on shoot proliferation of bitter almond nodal cuttings. Journal of Basic and Applied Sciences, 6(9): 135-139.

Ahmad, T., Abbasi, N.A., Hafiz, I.A. and Ali, A. 2007. Comparison of sucrose and sorbitol as main carbon energy sources in micropropagation of peach rootstock GF-677. Pakistan Journal of Botany, 39(4): 1269-1275.

Al-Khateeb, A. A. 2008. Regulation of *in vitro* bud formation of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) cv. Khanezi by different carbon sources. Bioresource Technology, 99(14): 6550-6555.

AL-Mizory, L.S.M. 2013. Effect of different concentration of cytokinins, carbon source and agar on *in vitro* propagation of *Dahlia* sp. through one single node. Journal of Life Sciences, 7(10): 1103-1112.

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(6): 708-714.

Butt, S.J., Varis, S., Nasir, I.A., Sheraz, S. and Shahid, A. 2015. Micropropagation in advanced vegetable production: a review. Advancements in Life Sciences, 2(2): 48-57

Castillo, B., Smith, M.A.L. and Madhavi, D.L. 1997. Interaction of irradiance level and iron chelat source during shoot tip cultutre of *carica papaya* L. Hortscience, 32(6): 1120-1123.

Cheong, E.J. and An, C. 2015. Effect of carbohydrates on *in vitro* shoot growth of various *prunus* species. Korean Journal of Plant Resources, 28(3): 357-362.

Debnath, S.C. 2005. Effects of carbon source and concentration on development of lingonberry (*Vaccinium vitis-idaea* L.) shoots cultivated *in vitro* from nodal explants. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant, 41(2): 145-150.

Freire, I.C.G., Coelho, C.P.S. and Barros, M.T.F. 2002. Improved culture media for the in vitro culture media for the *in vitro* establishment of pear from nodal cuttings. Acta Horticulturae, 596:457-761.

Gauchan, D.P. 2012. Effect of different sugars on shoot regeneration of maize (*Zea mays* L.). Kathmandu University Journal of Science, Engineering and Technology, 8(1): 119-124.

Harada, H. and Murai, Y. 1996. Micropropagation of *Prunus mume*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 46(3): 265–267.

Ilczuk, A., Jagiełło-Kubiec, K. and Jacygrad, E. 2013. The effect of carbon source in culture medium on micropropagation of common ninebark (*Physocarpus opulifolius* L.) maxim. 'Diable D'or'. Acta Scientiarum Polonorum. Hortorum Cultus, 12(3): 23-33.

Kadota, M. and Niimi, Y. 2004. Influences of carbon sources and their concentrations on shoot proliferation and rooting of hosui'japanese pear. Horticultural Science, 39(7): 1681-1683.

Kumar, S. and Singh, M.P. 2009. Plant Tissue Culture. APH publishing corporation, New Delhi, 1-260.

Mahdavian, M., Bouzari, N. and Abdollahi, H. 2011. Effects of media and plant growth regulators on micropropagation of a dwarfing cherry rootstock (PHL-A). Biharean Biologist, 5(2): 86-90.

Mosaleeyanon, K., Cha-um, S. and Kirdmanee, C. 2004. Enhanced growth and photosynthesis of rain tree (*Samanea saman* Merr.) plantlets *in vitro* under a CO_2-enriched condition with decreased sucrose concentrations in the medium. Scientia Horticulturae, 103(1): 51-63.

Mustafa, N.S., Rania, A., Taha, S.A.M. and Hassan, N.S. 2013. Effect of medium strength and carbon source on *in vitro* shoot multiplication of two *Ficus carica* cultivars. Journal of Applied Sciences Research, 9(4): 3068-3074.

Nazary Moghaddam Aghaye, R., Yadollahi, A., Moeini, A. and Sepahvand, S. 2013. *In vitro* culture of *Gisela 6* semi-dwarf rootstock. Journal of Biodiversity and Environmental Sciences, 7(20): 57-64.

Okafor, U.C. and Okezie, C.E.A. 2016. Effect of carbohydrate source on the *in vitro* germination of *Elaeis guineensis* Jacq. zygotic embryos on two basal media. African Journal of Biotechnology, 15(29): 1531-1540.

Pati, P.K. 2006. *In vitro* propagation of rose. A Review Biotechnology Advances, 24(1): 94–114.

Pérez, F.J., Meza, P., Berti, M. and Pinto, M. 2000. Effect of carbon source and sucrose concentration on growth and hexose accumulation of grape berries cultured *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 61(1): 37-40.

Saadat, Y.A., Rasti, O. and Zamani, J. 2012. Effects of different growth regulators, nutrient media, gelling agents and carbohydrate sources on shoot multiplication of *Pyrus glabra* Boiss. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 20: 83-96.

Santana, J.R.F.D., Paiva, R., Souza, A.V.D. and Oliveira, L.M.D. 2011. Effect of different carbon sources on the *in vitro* multiplication of *Annona* sp. Ciênciae Agrotecnologia, 35(3): 487-493.

Yildirim, H., Ahmet, O.N.A.Y., Tilkat, E. and Akturk, Z. 2011. Micropropagation of the apricot (*Prunus armeniaca* cv. Hacıhaliloğlu) by means of single node culture. Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 35(1): 55-64.

Yu, X. and Reed, B.M. 1993. Improved shoot multiplication of mature hazelnut (*Corylus avellana* L.) *in vitro* using glucose as a carbon source. Plant Cell Reports, 12(5): 256-259.

Zawadzka, M. and Orlikowska, T. 2006. Factors modifying regeneration *in vitro* of adventitious shoots in five red raspberry cultivars. Journal of Fruit and Ornamental Plant Research, 14: 105-115.