

اثر نوع محیط کشت پایه و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر کشت درون شیشه‌ای *Sorbus persica* Hedl.

زهرا آبروش^{۱*}، حبیب زارع^۲ و مصطفی خوشنویس^۳

*- نویسنده مسئول، کارشناسی ارشد، گروه زیست فناوری منابع طبیعی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی،

تهران، ایران، پست الکترونیک: abravesh@rifr-ac.ir; abravesh@gmail.com

۲- استادیار، مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، ساری، ایران

۳- مربی، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: دی ۱۳۹۹

تاریخ اصلاح نهایی: مرداد ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: مرداد ۱۴۰۰

چکیده

بارانک ایرانی (*Sorbus persica* Hedl.) درختی کُند رشد از تیره رزاسه و از گونه‌های انحصاری ایران و در حال انقراض است. از لحاظ ذخیره زنی، حفظ زیست محیطی و کاربرد دارویی حائز اهمیت است. به منظور تکثیر درون شیشه‌ای این گونه به روش کشت جوانه جانبی، پژوهشی به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه سطح محیط کشت و سه سطح سیتوکینین در سه تکرار اجرا شد. برای شاخه‌زایی، محیط‌های کشت DKW، WPM و MS حاوی سیتوکینین‌های BAP، Kin و Zip و برای ریشه‌زایی، محیط‌های کشت DKW، WPM و MS کامل و تغییر یافته با اکسین‌های IBA و NAA به صورت مجزا و کاربرد متوالی بررسی شدند. نتایج نشان داد که بهترین تیمار سترون‌سازی، کاربرد متوالی محلول هیپوکلیت سدیم ۲۰٪ (حجمی/حجمی، ۱۵ دقیقه) و کلرید جیوه ۰/۱٪ (۳ دقیقه) در فصل تابستان بود. تکثیر بهینه و رشد طولی شاخساره‌ها در محیط کشت MS با تنظیم کننده‌های رشد IBA (۰/۱) میلی‌گرم در لیتر، Kin (۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر) و BAP (۳ میلی‌گرم در لیتر) مشاهده شد. همچنین، ریشه‌زایی بهینه در محیط کشت DKW با یک چهارم غلظت عناصر بیش مغذی حاوی هورمون‌های IBA+NAA (۰/۳+۰/۳ میلی‌گرم در لیتر) بدست آمد.

واژه‌های کلیدی: انحصاری، ریزازدیادی، محیط کشت، *Sorbus persica* Hedl.

مقدمه

(Hedl.) از گونه‌های مهم جنس *Sorbus* و از اعضای خانواده Rosaceae جنگلی است که در یک دامنه وسیع در قفقاز، ارمنستان، قزاقستان، قرقیزستان، شمال و غرب ایران، ترکمنستان، ازبکستان، افغانستان، ترکیه، پامیر، آلائی و تیان‌شان انتشار دارد (Khatamsaz, 1992). به‌طور پراکنده در دامنه‌های باز سنگی (Ghahraman, 1994) و در نواحی جنگلی مرتفع و کوهستانی ایران، عمدتاً در ارتفاعات بالاتر

روند تخریب و نابودی جنگل‌ها مستلزم اعمال روش‌های مدیریتی علمی، جامع و برنامه‌ریزی دقیق است تا از جنگل‌ها به‌عنوان سرمایه‌های ملی نگهداری شود و از کاهش نگران‌کننده سطح و کیفیت این منابع ارزشمند، به‌ویژه گونه‌های نادر و ارزشمند جلوگیری نموده و برای حفاظت و احیای آن تلاش کرد. بارانک ایرانی (*Sorbus persica*)

تنوع ژنتیکی و وراثت‌پذیری صفات مختلف (Espahbodi *et al.*, 2008; Tabandeh *et al.*, 2007)، نشانگرهای مولکولی مبتنی بر DNA سیتوپلاسمی و هسته‌ای (Petita *et al.*, 2005) و بررسی علل کمیابی براساس نوع گرده‌افشانی (Eriksson, 2001) انجام شده است.

هدف از این پژوهش، دستیابی به روش‌های کارآمد و قابل تکثیر گونه بارانک ایرانی به‌صورت غیرجنسی در شرایط درون شیشه‌ای، امکان توصیه کشت و بهره‌برداری پس از موفقیت در ریزازدیادی بود. بدین‌منظور تأثیر تیمارهای مختلف باززایی گیاه در شرایط درون شیشه‌ای بررسی شد.

مواد و روش‌ها

انتخاب پایه و برداشت نمونه

پس از شناسایی پایه‌های گیاه در دو استان مازندران، منطقه جنگلی سیاه‌بیشه واقع در جاده چالوس (ارتفاع ۲۴۱۱ متری از سطح دریا) در ۲۱' ۳۶" عرض شمالی و ۳۰' ۵۱" طول شرقی، و استان البرز روستای دروان در ۳۰ کیلومتری شهرستان کرج (ارتفاع ۲۲۰۰ متری از سطح دریا)، در ۲۲' ۳۶" ۱' ۲۲" ۴" عرض شمالی و ۵۱' ۰۱" ۲۹' ۵" طول شرقی، میوه (پاییز) و سرشاخه‌های جوان (تابستان و پاییز ۱۳۹۴) در هر منطقه جمع‌آوری و به آزمایشگاه کشت‌بافت گیاهی مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور منتقل شد.

کشت جوانه

پس از حذف برگ‌های اضافی از شاخه‌های دارای جوانه، به‌منظور کاهش آلودگی سطحی شستشو با آب و مایع ظرفشویی (پنج دقیقه)، استفاده از محلول قارچ‌کش تیرام ۰/۲٪ به مدت ۲۴ ساعت، برس‌کشی با مایع ظرفشویی و اتانول ۷۰٪، پوسته‌برداری از جوانه‌ها و غوطه‌وری در محلول اتانول ۷۰٪ به مدت ۳۰ ثانیه برای پیش‌سترون‌سازی انجام شد. شاخه‌ها به قطعات کوچکتر حاوی یک یا دو

از ۱۰۰۰ متر به‌صورت پراکنده، تک‌پایه و گاهی در گروه‌های کوچک آمیخته با گونه‌های راش، ممرز و بلوط دیده می‌شود (Khatamsaz, 1992; Sabeti, 1994; Espahbodi *et al.*, 2005a; Mozaffarian, 2005).

بارانک از گونه‌های بسیار با ارزش اقتصادی (Espahbodi, 2005; Pourmajidian, 1999)، صنعتی (Eriksson, 2001; Piagnani & Bassi, 2000) و دارویی (Tsista-tzardi *et al.*, 1991; Tsista-tzardi *et al.*, 1992) است. پراکنش کم گونه‌های کمیاب و در حال انقراض (Jalili & Jamzad, 2000) و مدت زمان طولانی جوانه‌زنی (Yosef-zadeh & Espahbodi, 2007; Var *et al.*, 2010)، چرای دام (Espahbodi *et al.*, 2007)، عدم زادآوری طبیعی (Rotach, 1996)، برداشت بیش از حد برای تأمین چوب مورد نیاز جوامع بشری و صدمات ناشی از آلودگی هوا (Demesure *et al.*, 2000)، تنوع اندک درون جمعیتی (Iranmanesh, 2001) از عوامل تهدیدکننده نسل این گونه‌ها می‌باشند؛ بنابراین تجدید حیات تشکیل نشده و تکثیرشان رو به ازدیاد نیست (Bednorz *et al.*, 2004; Bednorz, 2007). بارانک ایرانی گونه‌ای دارویی، مقاوم به سرما و به‌لحاظ زیست محیطی در حفاظت خاک، جلوگیری از فرسایش خاک، تلطیف آب و هوای منطقه و اهمیت رویشگاهی به‌عنوان مأمن و مأوای حیات‌وحش از ارزش زیادی برخوردار است (Dzhangaliev *et al.*, 2003; Esmaili Sharif *et al.*, 2015). اهمیت آن از لحاظ دارویی و زیست محیطی سبب شد تا تکثیر آنها از طریق کشت‌بافت امری ضروری به نظر بیاید. تحقیقات دامنه‌داری در ایران و جهان در زمینه تنوع ژنتیکی، بررسی‌های مورفولوژیکی بارانک (Espahbodi *et al.*, 2006)، کشت‌بافت و جوانه‌زنی بذر بارانک (Nasiri, 2001) و کشت‌بافت جوانه تیس (Emam *et al.*, 2013)، زمان کاشت بذر (Espahbodi *et al.*, 2005b)، اثر مبدأ بذر بر ویژگی‌های مختلف زیستی (Espahbodi *et al.*, 2006)؛ تنوع مورفولوژی برگ و میوه (Espahbodi *et al.*, 2007)؛ تنوع مورفولوژی برگ و میوه (Espahbodi *et al.*, 2003; Espahbodi *et al.*, 2006) و

آب مقطر سترون شسته شدند. ریزنمونه‌ها دارای یک یا دو جوانه به ابعاد ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر بوده که به‌طور مجزا در ویال‌های حاوی محیط کشت MS کامل به‌همراه PVP (۰/۲ گرم در لیتر)، BAP (۰/۵ میلی‌گرم در لیتر) و IBA (۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر) برای استقرار انتقال یافتند.

جوانه تقسیم شدند. برای سترون‌سازی ریزنمونه‌ها (جداگشت‌ها) از محلول کلرید جیوه ۰/۱٪ در زمان‌های مختلف ۱/۵، ۲، ۳، ۴، ۵، ۶ و ۷ دقیقه، تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی با ۱٪ کلر فعال (دترجنت) به مدت ۱۰ و ۱۵ دقیقه و کلرید جیوه ۰/۱٪ به مدت دو و سه دقیقه (جدول‌های ۱ و ۲) استفاده شد. سپس سه مرحله با

جدول ۱- فصل نمونه‌برداری، تیمارهای سترون‌سازی و زمان سترون‌سازی

بر ریزنمونه‌های *Sorbus persica* روستای دروان

فصل نمونه‌برداری	تیمار سترون‌سازی	زمان
تابستان	کلرید جیوه ۰/۱٪	۵ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۷ دقیقه
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی + کلرید جیوه ۰/۱٪	۱۰ دقیقه + ۲ دقیقه
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی + کلرید جیوه ۰/۱٪	۱۰ دقیقه + ۳ دقیقه
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی + کلرید جیوه ۰/۱٪	۱۵ دقیقه + ۲ دقیقه
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی + کلرید جیوه ۰/۱٪	۱۵ دقیقه + ۳ دقیقه
پاییز	کلرید جیوه ۰/۱٪	۵ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۳ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۲ دقیقه

جدول ۲- فصل نمونه‌برداری، تیمارهای سترون‌سازی و زمان سترون‌سازی

بر ریزنمونه‌های *Sorbus persica* سیاه‌پیشه (جاده چالوس)

فصل نمونه‌برداری	تیمار سترون‌سازی	زمان
تابستان	کلرید جیوه ۰/۱٪	۱/۵ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۳ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۵ دقیقه
پاییز	کلرید جیوه ۰/۱٪	۲ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۴ دقیقه
	کلرید جیوه ۰/۱٪	۶ دقیقه

شاخه‌زایی

پس از استقرار، نمونه‌ها برای بازکشت‌های ماهیانه به‌منظور یافتن بهترین محیط‌کشت به محیط‌های کشت MS، WPM و DKW انتقال داده شدند (جدول ۳). در مرحله شاخه‌زایی تأثیر محیط‌کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد مورد بررسی قرار گرفت. ریزنمونه‌ها در محیط‌های کشت MS، WPM و DKW حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکینین BAP، Kin، 2iP و اکسین IBA به‌ترتیب در

غلظت‌های ۳، (۰/۵، ۰/۲۵)، (۰/۵، ۰/۲۵) و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر انتقال یافتند (جدول ۴). هر تیمار در پنج تکرار و هر تکرار شامل شش ریزنمونه بود. شاخص‌های رشد طولی، ضریب ازدیادی (شاخه و جوانه) و سبزی‌نگی شاخساره در پایان هر دوره بازکشت ماهیانه یادداشت‌برداری شد. سبزی‌نگی شاخساره از ۱ تا ۴ کدگذاری شد که یک نشانگر خشکی و نکرورگی کامل پهنک برگ و چهار نمایانگر رنگ سبز تیره پهنک برگ بود.

جدول ۳- مقایسه غلظت یونی نمک‌های موجود در محیط کشت

DKW	WPM	MS	یون
۱۷/۵	۴/۹۴	۲۰/۶۱	NH ₄ (mM)
۲۰	۱۲/۶۱	۱۰/۵۲	K ⁺
۳	۱/۵	۱/۵	Mg ⁺⁺
۹/۳	۳	۲/۹۹	Ca ⁺⁺
۰/۳	۰/۲۲۴	۰/۲۲۴	Na ⁺
۳۴/۴	۹/۶۴	۳۹/۴	NO ₃ ⁻
۲	۱/۲۵	۱/۲۵	PO ₄ ⁻
۱۲/۳	۷/۴۴	۱/۷۶	SO ₄ ⁼⁼
۲	۱/۳۱	۶	Cl ⁻
-	-	۵	I ⁻ (μM)
۱۹۸	۱۳۲	۱۳۲	Mn ⁺⁺
۵۷	۲۰	۲۹	Zn ⁺⁺
۷۸	۱۰۰	۱۰۰	B ⁺⁺⁺
۱/۶	۱/۰۳	۱/۰۳	Mo ⁺⁺⁺
-	-	۰/۱۰۵	Co ⁺⁺
۱	۱/۰۳	۰/۱	Cu ⁺⁺
۰/۰۲	-	-	Ni ⁺⁺
۱۲۲	۱۰۰	۱۰۰	Fe ⁺⁺
۰/۲۲	۰/۵۱	۰/۵۲	NH ₄ NO ₃ (mM)
۹۴/۰۷۴	۴۲/۳۹	۹۴/۲۵	قدرت یونی کل (mM) d

جدول ۴- تأثیر محیط کشت‌های مختلف و تنظیم‌کننده‌های رشد بر ریزازدیادی *Sorbus persica*

محیط کشت کامل	BAP (میلی گرم در لیتر)	2ip (میلی گرم در لیتر)	Kin (میلی گرم در لیتر)	IBA (میلی گرم در لیتر)
MS	۳	-	-	۰/۰۱
	۳	۰/۵	-	۰/۰۱
	۳	-	۰/۵	۰/۰۱
	۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۱
DKW	۳	-	-	۰/۰۱
	۳	۰/۵	-	۰/۰۱
	۳	-	۰/۵	۰/۰۱
	۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۱
WPM	۳	-	-	۰/۰۱
	۳	۰/۵	-	۰/۰۱
	۳	-	۰/۵	۰/۰۱
	۳	۰/۲۵	۰/۲۵	۰/۰۱

ریشه‌زایی

شاخساره‌های به طول ۲/۵ تا ۳ سانتی‌متر به‌منظور ارزیابی ریشه‌زایی به محیط کشت پایه MS بدون تنظیم‌کننده‌های رشد (پیش‌تیمار ریشه‌زایی) به مدت یک ماه منتقل شدند تا گیاهچه‌ها بتوانند سطح تولید تنظیم‌کننده‌های رشد طبیعی خود را در محیط بدون تنظیم‌کننده رشد بدست آورند. چندین مرحله از تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین IBA و NAA برای ریشه‌زایی استفاده گردید. در غلظت‌های کم از ۰ تا ۰/۶ میلی‌گرم در لیتر به‌صورت مجزا و تلفیقی بر محیط کشت‌های مختلف MS، WPM و DKW به‌صورت کامل و تغییر یافته و در غلظت‌های بالا شامل ۶/۵ و ۱۳/۵ میلی‌گرم در لیتر در محیط کشت MS کامل به مدت یک هفته در تاریکی و بعد انتقال به محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده‌های رشد و در تیمار دیگری در محیط کشت DKW با یک چهارم غلظت عناصر ماکرو به‌صورت مجزا در غلظت‌های از ۰/۳ تا ۱/۳ میلی‌گرم در لیتر و به‌صورت تلفیقی غلظت‌های ۰/۳ + ۰/۳ و ۰/۵ + ۰/۵ (جدول ۵) اعمال شد. هر تیمار شامل پنج تکرار شش‌تایی شاخساره

بود. پس از ده هفته ریشه‌زایی گیاهچه‌ها در تیمارهای کشت بدست آمد. مخلوط خاک پیت:پرلیت با نسبت ۱:۳ در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت استریل شد. گیاهان حاصل برای طی مراحل سازگاری در گلدان‌های با سرپوش نایلونی برای حفظ حداکثر رطوبت قرار گرفتند و در گلخانه تحقیقاتی به مدت ۲ ماه نگهداری شده و پس از مراقبت‌های لازم از زیر سرپوش خارج شدند.

نتایج

در این مطالعه از آب و مایع ظرفشویی، قارچ‌کش و برس‌کشی با اتانول ۷۰٪ به‌منظور کاهش آلودگی‌های سطحی جداکشت‌ها قبل از سترون‌سازی استفاده گردید. بهترین روش سترون‌سازی جوانه، استفاده از محلول تلفیقی هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی با ۱٪ کلر فعال (دترجنت) (۱۵ دقیقه) به همراه کلرید جیوه ۰/۱٪ (۳ دقیقه) در فصل تابستان بدست آمد. بنابراین فصل تابستان نسبت به پاییز زمان مناسب‌تری برای نمونه‌برداری بود (شکل ۱، جدول ۶).

جدول ۵- بررسی محیط کشت تغییر یافته DKW در غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد اکسین

بر ریشه‌زایی <i>Sorbus persica</i>		
محیط کشت	تیمار هورمونی	غلظت (میلی گرم در لیتر)
۱/۴ DKW	IBA	۰/۳
		۰/۵
		۰/۷
		۱
		۱/۳
۱/۴ DKW	NAA	۰/۳
		۰/۵
		۰/۷
		۱
		۱/۳
۱/۴ DKW	IBA+NAA	۰/۳ + ۰/۳
		۰/۵ + ۰/۵

جدول ۶- تأثیر زمان نمونه‌گیری و روش‌های سترون‌سازی بر درصد استقرار جوانه‌های *Sorbus persica*

در دو فصل سال (روستای دروان)

فصل	تیمار سترون‌سازی	درصد استقرار	درصد آلودگی	درصد نکروزگی	درصد نمونه‌های زنده رشد نکرده
تابستان	کلرید جیوه ۰/۱٪ (۵ دقیقه)	۹/۰۹۰	۵/۳۰۲	-	۸۵/۶۰۶
	کلرید جیوه ۰/۱٪ (۷ دقیقه)	۹/۰۲۲	۱۱/۲۷۸	-	۷۹/۶۹۹
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی (۱۰ دقیقه) + کلرید جیوه ۰/۱٪ (۲ دقیقه)	۳/۴۰۹	۲۳/۴۴۸	-	۷۲/۷۲۷
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی (۱۰ دقیقه) + کلرید جیوه ۰/۱٪ (۳ دقیقه)	-	۱۷/۹۴۸	-	۸۲/۰۵۱
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی (۱۵ دقیقه) + کلرید جیوه ۰/۱٪ (۲ دقیقه)	۱۳/۰۴۳	۳۶/۹۵۶	-	۵۰
	تلفیق هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی (۱۵ دقیقه) + کلرید جیوه ۰/۱٪ (۳ دقیقه)	۲۳/۴۰۴	۱۲/۷۶۵	-	۴۲/۵۵۳
پاییز	کلرید جیوه ۰/۱٪ (۵ دقیقه)	-	۶/۱۲۲	۸۷/۷۵	۶/۱۲۲
	کلرید جیوه ۰/۱٪ (۳ دقیقه)	-	۲/۱۲۷	۸۵/۱۰۶	۱۲/۷۶۵
	کلرید جیوه ۰/۱٪ (۲ دقیقه)	-	۳/۳۳	۸۳/۳۳	۱۴/۳۳

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که عامل محیط کشت بر صفات رشدی ضریب ازدیاد (شاخساره و جوانه)، رشد طولی و سبزیگی شاخساره دارای تأثیر معنی‌داری است، به طوری که بیشترین رشد طولی، ضریب ازدیاد و سبزیگی شاخساره‌ها در محیط کشت MS بدست آمد. اثر متقابل محیط کشت و تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد بر شاخص‌های رشد طولی و سبزیگی شاخساره در سطح ۱٪ و بر شاخص ضریب ازدیاد در سطح ۵٪ معنی‌دار است (جدول ۷).

نمونه جوانه‌های سیاه‌بیشه در دو فصل تابستان و پاییز به علت شدت بالای آلودگی و نکرزگی استقرار نیافتند. برای ادامه کار از نمونه‌های استقرار یافته روستای دروان استفاده شد.



شکل ۱- استقرار ریزنمونه *Sorbus persica*

جدول ۷- نتایج تجزیه واریانس صفات رشد طولی، ضریب ازدیاد و سبزیگی

شاخساره‌های *Sorbus persica* در روستای دروان

سبزیگی	ضریب ازدیاد (تعداد شاخساره و جوانه)	رشد طولی شاخساره	درجه آزادی	منبع تغییرات
۳/۱۳۹***	۰/۰۸۹***	۰/۰۱۷***	۲	محیط
۰/۲۵۵***	۰/۰۰۵۹ns	۰/۰۰۱۸ns	۳	تیمار
۰/۶۸***	۰/۰۲۵۹*	۰/۰۰۴۵***	۶	اثر متقابل محیط در تیمار
۰/۰۲۷	۰/۰۱۰۸	۰/۰۰۱۴	۴۸	خطا
۴/۵۳	۵/۲۲	۳/۳۲		ضریب تغییرات

ns، **، ***: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

مقایسه تیمار هورمونی با کد ۱ در هر سه محیط کشت نشان می‌دهد که هورمون BAP بدون حضور دو هورمون Kin و 2iP اثر یکسانی داشت. حضور هورمون Kin با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر در تلفیق با تنظیم‌کننده‌های رشد BAP در تیمار با کد ۲ در هر سه محیط کشت نشان داد که دو محیط کشت WPM و DKW در رشد طولی شاخساره تأثیر یکسانی داشتند و با محیط کشت MS اثر مشابهی نداشتند. ضریب ازدیاد تیمار با کد ۲ در دو محیط کشت MS و DKW پاسخ متفاوتی نشان داد، در حالی‌که دو محیط کشت MS و WPM تأثیر مشابهی داشتند (جدول ۸). حضور هورمون 2iP با غلظت ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر در تلفیق با تنظیم‌کننده‌های

مقایسه میانگین گیاهچه‌های کشت شده در سه محیط کشت MS، WPM و DKW نشان داد که تیمارها در هر محیط کشت به طور مجزا اثر مشابه و یکسانی دارند. تیمارهای تنظیم‌کننده‌های رشد در محیط کشت MS رشد طولی و ضریب ازدیاد بیشتری نسبت به تیمارهای هورمونی در دو محیط کشت WPM و DKW دارند و سبزیگی شاخساره در چهار تیمار هورمونی در دو محیط کشت MS و DKW اثر مشابهی داشتند و نسبت به محیط کشت WPM پاسخ متفاوتی را نشان دادند. براساس این نتایج محیط کشت MS می‌تواند به عنوان محیط کشت بهینه برای تکثیر این گونه توصیه شود (جدول ۸). هورمون BAP در چهار تیمار هورمونی غلظت یکسانی دارد.

تیمار تأثیر یکسانی دارد (جدول ۸). بیشترین میانگین ضریب ازدیادی (۱۹/۷۳) و سبزیگی شاخساره از کشت جوانه جانبی در محیط کشت MS با ترکیب هورمونی BAP، Kin، 2ip و IBA به ترتیب در غلظت‌های ۳، ۰/۲۵، ۰ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر (شکل ۲) و برای محیط کشت WPM میانگین ضریب ازدیادی (۱۸/۸۶۷) با ترکیب هورمونی BAP، Kin، 2ip و IBA به ترتیب در غلظت‌های ۳، ۰، ۰/۲۵ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (جدول ۸).

رشد BAP در تیمار با کد ۳ هر سه محیط کشت در رشد طولی شاخساره تأثیر یکسانی داشتند و ضریب ازدیادی در تیمار با کد ۳ در دو محیط کشت MS و WPM اثر مشابهی داشتند و هر دو با محیط کشت DKW پاسخ متفاوتی نشان دادند و بیان می‌کند که دو محیط کشت MS و WPM برای پرآوری شاخه بهتر از محیط کشت DKW بودند (جدول ۸). بررسی اثر تلفیقی سه هورمون BAP، Kin و 2ip در تیمار با کد ۴ نشان داد که رشد طولی در محیط کشت MS بهتر از دو محیط کشت WPM و DKW است، در حالی که ضریب ازدیادی در این

جدول ۸- مقایسه میانگین صفات رشد طولی، ضریب ازدیادی و سبزیگی

شاخساره *Sorbus persica* روستای دروان

سبزیگی	ضریب ازدیادی	طول شاخساره	تیمار هورمونی (میلی‌گرم در لیتر)	کد تیمار	محیط کشت
۴/۰۰ a	۱۸/۶۶ ab	۱/۷۹۱ bcd	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۱	MS
۳/۹۶۶ a	۱۹/۷۳ a	۲/۱۸۹ a	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۲	
۴/۰۰ a	۱۵/۰۰ abc	۱/۹۷۵ abc	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۳	
۳/۶۸۳ bc	۱۷/۰۶۷ abc	۲/۰۴۰ ab	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۴	
۳/۵ c	۱۵/۳۳۳ abc	۱/۵۷۳ d	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۱	WPM
۳/۲۳ d	۱۷/۸۶۷ abc	۱/۶۵۱ cd	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۲	
۳/۰۰ e	۱۸/۸۶۷ a	۱/۶۹۲ bcd	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۳	
۳/۰۰ e	۱۵/۱۳۳ abc	۱/۵۷۳ d	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۴	
۳/۸۳ ab	۱۴/۰۰ bc	۱/۸۲۲ bcd	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۱	DKW
۳/۸۵ ab	۱۳/۲۶۷ c	۱/۸۱۷ bcd	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0)+ IBA(0.01)	۲	
۳/۸۶۷ ab	۱۳/۶۶۷ c	۱/۷۴۷ bcd	BA(3)+ Kin(0)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۳	
۳/۷۱۶ bc	۱۳/۸۶۷ bc	۱/۶۴۱ cd	BA(3)+ Kin(0.25)+2ip(0.25)+ IBA(0.01)	۴	

حروف مشابه به معنی عدم معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵٪ است.



شکل ۲- شاخه‌زایی جوانه جانبی *Sorbus persica*

گیاهچه ریشه‌دار (۰/۹۹۶) و تعداد ریشه (۱/۰۵۸) در تیمار تلفیقی IBA + NAA با غلظت ۰/۳ + ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین طول ریشه (۱/۴۰۹) در تیمار تنظیم‌کننده‌های رشد NAA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد (شکل ۳). گیاهچه‌های ریشه‌دار شده پس از انتقال به خاک گلدان استریل و گذاشتن درپوش پلاستیکی برای حفظ رطوبت در شرایط گلخانه به میزان ۲۰٪ سازگار شدند (شکل‌های ۴ و ۵).

نتیجه تیمارهای مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد با محیط کشت‌های متفاوت این بود که، یا ریشه‌زایی نداشت و یا ریشه‌زایی با درصد کمی داشت و در برخی از نمونه‌ها گیاهچه‌های ریشه‌دار شده تارکشنده نداشتند. در تیمار دیگری گیاهچه‌ها به محیط ریشه‌زایی مایع با غلظت بالا (۶/۵ و ۱۳/۵ میلی‌گرم در لیتر) به مدت یک هفته در محیط تاریکی قرار گرفتند و بعد به محیط کشت MS بدون تنظیم‌کننده‌های رشد انتقال یافتند، این تیمار نیز ریشه‌زایی نشان نداد. با توجه به جدول‌های ۹ و ۱۰، بیشترین تعداد

جدول ۹- تجزیه واریانس صفات تعداد گیاهچه ریشه‌دار، تعداد ریشه، طول ریشه به سانتی‌متر، درصد ریشه‌زایی *Sorbus persica* در تیمارها و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین

منبع تغییرات	درجه آزادی	گیاهچه ریشه‌دار	تعداد ریشه	طول ریشه به سانتی‌متر
تیمار هورمونی	۱	۰/۰۲۴*	۰/۰۷۷**	۰/۵۴*
غلظت	۵	۰/۰۰۴ ns	۰/۰۰۱۸ ns	۰/۱۲ ns
اثر متقابل غلظت در تیمار	۵	۰/۰۰۴۵**	۰/۰۰۷۵ ns	۰/۰۸۲ ns
خطا	۴۸	۰/۰۰۵۹	۰/۰۱۰۸	۰/۰۲۷
ضریب تغییرات		۸/۴۰	۱۰/۴۲	۲۴/۷۱

جدول ۱۰- مقایسه میانگین صفات تعداد گیاهچه ریشه‌دار، تعداد ریشه، طول ریشه به سانتی‌متر و درصد ریشه‌زایی *Sorbus persica* در تیمارها و غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین

تیمار هورمونی	غلظت (میلی‌گرم در لیتر)	گیاهچه ریشه‌دار	تعداد ریشه	طول ریشه به سانتی‌متر
IBA	۰/۳	۰/۸۸۶ abc	۰/۸۸۶ bc	۱/۰۲۴ abc
	۰/۵	۰/۹۲۱ abc	۰/۸۷۸ bc	۱/۲۱۱ abc
	۰/۷	۰/۸۷۶ bc	۰/۸۷۶ bc	۱/۰۲۲ abc
	۱	۰/۸۸۲ abc	۰/۸۹۷ bc	۱/۰۳۱ abc
	۱/۳	۰/۸۴۰ c	۰/۸۴۰ c	۰/۸۴ c
NAA	۰/۳	۰/۹۲۳ abc	۰/۹۵۴ abc	۱/۳۱۲ ab
	۰/۵	۰/۹۳۶ abc	۰/۹۳۳ abc	۱/۴۰۹ a
	۰/۷	۰/۹۶۱ abc	۰/۹۸۵ ab	۱/۲۶۲ abc
	۱	۰/۸۶۵ bc	۰/۹۰۶ bc	۰/۹۴۶ bc
	۱/۳	۰/۹۴۲ abc	۰/۹۹۴ ab	۱/۲۴۶ abc
IBA + NAA	۰/۳+۰/۳	۰/۹۹۶ a	۱/۰۵۸ a	۱/۲۶۳ abc
IBA + NAA	۰/۵+۰/۵	۰/۹۶۳ ab	۱/۰۱۸ ab	۱/۳۶۶ ab

حروف مشابه به معنی عدم معنی‌دار بودن میانگین‌ها در سطح احتمال ۵٪ است.

شکل ۳- ریشه‌زایی گیاه *Sorbus persica*

شکل ۴- انتقال به گلدان برای سازگاری



شکل ۵- سازگاری گیاه

بحث

میکروارگانسیم‌های قارچی، باکتریایی و ویروسی از سطح اجسام و جلوگیری از انتقال آنها انجام می‌شود. در سترون‌سازی، کاربرد تلفیقی محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ حجمی به مدت ۱۵ دقیقه و شستشو با آب مقطر و بعد غوطه‌وری در محلول کلریدجیوه ۱/۰٪ به مدت سه دقیقه در فصل تابستان تأثیر قوی‌تری نسبت به سایر تیمارها در کاهش آلودگی، نکروزه شدن و استقرار بافت جوانه داشت (جدول ۵). علت این مسئله را می‌توان ناشی از این امر دانست که پایه‌ها در تابستان به علت خشکی هوا کمتر درگیر بیماری‌های قارچی و میکروبی درونی بودند.

برتری روش کشت بافت بر سایر روش‌ها به دلیل سرعت تکثیر و امکان کاربرد آن در مورد گیاهان بالغ است (Bonga & Aderkas, 1992). پیش سترون‌سازی جداکشت‌ها در کاهش آلودگی‌های سطحی نمونه‌ها تأثیر مثبتی داشت. به مفید بودن پیش سترون‌سازی توسط سایر پژوهشگران در منابع علمی اشاره شده است (Abravesh et al., 2013; Emam et al., 2012). سترون‌سازی نمونه‌ها با استفاده از محلول‌های هیپوکلریت سدیم، کلریدجیوه و یا تلفیقی از هر دو محلول با هدف از بین رفتن

گزارش شده است. Emam و همکاران (۲۰۱۸) بیان نمودند که نمونه‌های *Zhumeria majdae* در محیط کشت WPM با حضور ترکیبی دو هورمون سیتوکینین BAP و 2iP در بالاترین میزان، استقرار و شاخه‌زایی داشتند. Emam و همکاران (۲۰۱۳) گزارش نمودند که گونه *Sorbus aucuparia* L. در محیط کشت DKW با حضور ترکیبی دو هورمون سیتوکینین BAP و TDZ در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۰۵ میلی‌گرم در لیتر بیشترین شاخه‌زایی را بدست آورده‌اند.

بررسی تیمارهای مختلف هورمونی ریشه‌زایی با محیط کشت‌های کامل و تغییر یافته MS، DKW و WPM نتایج رضایت‌بخشی را به دنبال داشت یا اینکه ریشه‌زایی نداشتند و یا ریشه‌زایی با درصد کمی داشتند و در برخی از نمونه‌ها، گیاهچه‌های ریشه‌دار شده تارک‌کننده نداشتند. بیشترین موفقیت ریشه‌زایی و تعداد گیاهچه‌های ریشه‌دار در این مطالعه در محیط کشت تغییر یافته DKW با یک چهارم غلظت عناصر ماکرو با تیمار تلفیقی IBA + NAA با غلظت ۰/۳ + ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر و بیشترین طول ریشه در تیمار هورمونی NAA با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. ریشه‌زایی گونه *Sorbus aucuparia* در محیط کشت تغییر یافته WPM با هورمون IBA در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر و در شرایط تاریکی توسط Emam و همکاران (۲۰۱۳) گزارش شده است. Tsvetkov و همکاران (۲۰۰۷) با استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد اکسین IAA، NAA و IBA در غلظت‌های مختلف موفق به ریشه‌زایی *Sorbus domestica* با اکسین IAA در غلظت‌های (۲۷/۲-۵۴/۴ μM) در شرایط درون شیشه‌ای شدند. گیاهچه‌های ریشه‌دار برای طی مراحل سازگاری در گلدان‌های با سرپوش نایلونی برای حفظ حداکثر رطوبت قرار گرفتند و در گلخانه تحقیقاتی به مدت ۲ ماه نگهداری شده و پس از مراقبت‌های لازم از زیر سرپوش خارج شدند. مراحل سازگاری تدریجی با تأنی و حساسیت بسیار زیاد انجام شد.

Emam و همکاران (۲۰۱۳) نتایج مشابهی را در مورد گونه *Sorbus aucuparia* L. گزارش نمودند که همسو با نتایج این پژوهش است. استفاده ترکیبی از محلول هیپوکلیت سدیم و کلرید جیوه با هدف حذف آلودگی‌ها توسط Naraghi (۲۰۰۵) در تکثیر درون شیشه‌ای سرخدار گزارش شده است.

البته معنی‌دار بودن عامل محیط کشت بر صفات رشد (جدول ۷) به میزان یون‌های درون محیط کشت (جدول ۳) بستگی دارد. یون‌هایی مانند نیترات و آمونیوم در محیط کشت MS بیشتر وجود دارد. این میزان بالای ازت نقش مثبتی بر رشد و تکثیر شاخه دارد و در تحقیقی به نقش مثبت ازت در ساختار اسیدهای آمینه و متابولیسم پروتئین‌ها، رشد و تمایز گیاه و کیفیت شاخه اشاره شده است (McCown & Sellmer, 1982). مطالعات مشابهی Abravesh و همکاران (۲۰۱۹) بر روی *Eucalyptus citriodora* H. و Emam و همکاران (۲۰۱۳) بر روی *Sorbus aucuparia* L. انجام داده‌اند که تأییدی بر نتایج بدست آمده در این پژوهش است. برتری محیط کشت MS با محیط کشت WPM و DKW ناشی از بالا بودن قدرت یونی محیط کشت MS (McCown & Sellmer, 1982) و بالا بودن غلظت یون نیترات است (Van der salm et al., 1994).

بر اساس نتایج حاصل از این پژوهش با هدف تعیین تنظیم‌کننده‌های رشدی مناسب (جدول ۸)، بیشترین میانگین ضریب ازدیادی (۱۹/۷۳) در محیط کشت MS با ترکیب تنظیم‌کننده‌های رشد BAP، Kin، 2ip و IBA به ترتیب در غلظت‌های ۰، ۰/۲۵، ۰ و ۰/۰۱ میلی‌گرم در لیتر بدست آمد. BAP از جمله تنظیم‌کننده‌های محرک رشد و تکثیر شاخساره با قدرت ماندگاری بالا و در غلظت‌های نسبتاً بالا، سبب رشد شاخه‌های جانبی گیاهان می‌شود که به دلیل ذخیره شدن هورمون BAP در جوانه‌های جانبی گیاه است (Evers et al., 1988). تأثیر تیمار سیتوکینین به همراه غلظت‌های ضعیف اکسین بر ایجاد شاخه‌های نابجا، به ویژه در آغاز شاخه‌زایی توسط Aderkas و Bonga (۱۹۹۲)

منابع مورد استفاده

- Esmaeili Sharif, M., Hosseini Nasr, S.M., Ghamarizare, A. and Talebi, M., 2015. Investigation of propagation methods of Iranian *Sorbus persica* Hedl species and evaluation of somaclonal diversity in regenerated plants. Ph.D. Thesis, University of Agricultural Sciences, Department of Natural Resources.
- Espahbodi, K., 2005. Study of genetic variety and genotype and environment effects in the process of establishment and growth of *Sorbus* seedlings. Ph.D. Thesis in Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, 135p.
- Espahbodi, K., Amani, M., Mohammadnejad Kiasari, Sh., Zare, H., Jafari Gorzin, B., Chabok, A. and Ehteshamzadeh, M., 2007. Distribution of wild service tree based on some ecological factors in Sangdeh forests, north of Iran. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 15(3): 207-216.
- Espahbodi, K., Mirzaee Nadoshan, H., Tabari, M. and Akbarinia, M., 2005a. Investigation of the effects of planting date and soil mulching on germination of service tree seeds. *Journal of Agricultural Sciences and Natural Resources*, 12(4): 147-153.
- Espahbodi, K., Mirzaee Nadoshan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shuraki, Y., 2005b. Effects of seed trees age and one year seed storage on seed germination of *Sorbus torminalis*. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 11(4): 519-538.
- Espahbodi, K., Mirzaee Nadoshan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shuraki, Y., 2006. Effect of altitude from sea level on the germination of *Sorbus* seed. *Iranian Journal of Natural Resources*, 59(1): 103-113.
- Espahbodi, K., Mirzaee Nadoshan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shuraki, Y., 2008. Study on heritability of some growth characteristic of *Sorbus torminalis* (L.) seedlings. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 16(1): 1-10.
- Espahbodi, K., Mirzaee Nadoshan, H., Tabari, M., Akbarinia, M. and Dehghan Shuraki, Y., 2003. Effects of seed trees age and one year seed storage on seed germination of *Sorbus torminalis*. *Iranian Journal of Forest and Poplar Research*, 11(4): 519-538.
- Evers, P.W., Donkers, J., Prat, A. and Vermeer, E., 1988. *Micropropagation of Forest Trees Through Tissue Culture*. Pudoc of Wageningen, 84p.
- Ghahraman, A., 1994. *Color Flora of Iran* (Vol. 27). National Forests and Rangelands Research Institute.
- Iranmanesh, Y., 2001. Use of enzymatic studies in order to *Sorbus* ecotypes and genotypes isolation in the frame forest area. Master Thesis, department of Forestry, Faculty of Natural Resources, University of Mazandaran, 106p.
- Abravesh, Z., Assareh, M.H. and Emam, M., 2013. Micropropagation of *Eucalyptus occidentalis* Endl. *Iranian Journal of Forest*, 5(3): 271-280.
- Abravesh, Z., Assareh, M.H. and Emam, M., 2019. Micropropagation of *Eucalyptus citriodora* H. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 27(1): 86-97.
- Abravesh, Z., Assareh, M.H., Emam, M. and Morid, A., 2015. Effects of culture medium and growth regulators on micropropagation of *Eucalyptus occidentalis*. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 23(2): 192-202.
- Bednorz, L., 2007. Conservation of genetic resources of *Sorbus torminalis* in Poland. *Dendrobiology*, 58: 3-7.
- Bednorz, L., Myczko, L. and Kosinski, P., 2004. Isozyme polymorphism and SKI genetic structure of the population of *Sorbus torminalis* (L.) Crantz from the Bytyn forest (Poland). *Journal of Applied Genetics*, 45(3): 321-324.
- Bonga, J.M. and Aderkas, P., 1992. *In Vitro Culture of Trees*. Springer Netherland, 238p.
- Demesure, B., Guerroué, B.L., Lucchi, G., Prat, D. and Petit, R.J., 2000. Genetic variability of a scattered temperate forest tree: *Sorbus torminalis* L. (Crantz). *Annals of Forest Science*, 57: 63-71.
- Dzhangaliev, A.D., Salova, T.N. and Turekhanova, P.M., 2003. The wild fruit and Nut plants of Kazakhstan: 305-371. Janick, J., (Ed.). *Horticultural Reviews: Wild Apple and Fruit Trees of Central Asia* (Vol. 29). Wiley, 416p.
- Emam, M., Ghamarizare, A., Espahbodi, K., Naraghi, T.S. and Shahrzad, Sh., 2012. Micropropagation of forest tree of *Sorbus aucuparia* L. by bud culture of mature plants. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 19(2): 263-273.
- Emam, M., Ghamarizare, A., Espahbodi, K., Naraghi, T.S., Shahrzad, Sh., Zare, H. and Mirjani, L., 2013. Effect of medium, plant growth regulators and genotype on In vitro regeneration of *Sorbus aucuparia* L. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants Research*, 29(1): 85-96.
- Emam, M., Mirjani, L., Hesamzade Hejazi, M. and Soltanipoor, M.A., 2018. Asexual regeneration of (*Zhumeria majdae* L.) by bud culture. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 26(1): 63-70.
- Eriksson, G., 2001. Conservation of noble hardwoods in Europe. *Canadian Journal of Forest Research*, 31(4): 577-587.

- and Canger, S., (Eds.). Noble Hardwoods Network. Report of the First Meeting, 197p.
- Sabeti, H., 1994. Forests, Trees and Shrubs of Iran. Yazd University Publishers, 810p.
 - Tabandeh, A., Tabari, M., Mirzaei-Nadoushan, H. and Espahbodi, K., 2007. Heritability of some characteristics of *Sorbus torminalis* seedling. Pakistan Journal of Biological Sciences, 10(16): 2760-2763.
 - Tsista-Tzardi, E., Loukis, A. and Philianos, S., 1991. Constituents of *Sorbus torminalis* fruits. Fitoterapia, 62: 282-283.
 - Tsista-Tzardi, E., Loukis, A. and Philianos, S., 1992. Constituents of *Sorbus torminalis* leaves. Fitoterapia, 63: 189-190.
 - Tsvetkov, I., Jouve, L., hoffmann, L. and Hausman, J.F., 2007. Effect of auxins and alginate encapsulation on *in vitro* rooting of *Sorbus domestica*. Belgian Journal of Botany, 140(2): 151-156.
 - Van der salm, T.P.M., Van der torn, C.J.G. and Hanischencate, C.H., 1994. Importance of iron chelate formula for micropropagation of *Rosa hybrida* L. Moneyway. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 37: 73-77.
 - Var, M., Bekci, B. and Dincer, D., 2010. Effect of stratification treatments on germination of *Sorbus torminalis* L. Crantz (wild service tree) seed with different origins. African Journal of Biotechnology, 9(34): 5535-5541.
 - Yosef-zadeh, H. and Espahbodi, K., 2007. Investigation of diversity and seed decay process of different populations of *Sorbus* species. Iranian Journal of Biology, 20(2): 215-224.
 - Jalili, A. and Jamzad, Z., 2000. Red Data Book of Iran. Iranian Research Institute of Forest and Rangeland, Tehran, 748p.
 - Khatamsaz, M., 1992. Flora of Iran: Rosaceae Family (Vol. 6). National Forests and Rangelands Research Institute, 250p.
 - McCown, B.H. and Sellmer, J.C., 1982. General Media and Vessels Suitable for Woody Plant Culture: 4-16. In: Bonga, J.M and D.J. Durzan. Cell and Tissue Culture in Forestry (Vol.1): General Principles and Biotechnology. Martinus Nijhoff Publishers, 422p.
 - Mozaffarian, V.A., 2005. Trees and Shrubs of Iran. Contemporary Culture Publications, 1054p.
 - Naraghi, T.S., 2005. In vitro propagation of *Taxus baccata* through zygotic embryo culture. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, 12(4): 335-344.
 - Nasiri, M., 2001. Micropropagation of wild service tree (*Sorbus torminalis* (L.) Crantz) 1- shoot proliferation. Iranian Journal of Rangelands and forests Plant breeding and Genetic Research, 6(1): 115-129.
 - Petita, F., Goba, F., Houbrechtsa, G. and Assani, A.A., 2005. Critical specific stream power in gravel-bed rivers. Geomorphology, 69: 92-101.
 - Piagnani, C. and Bassi, D., 2000. In vivo and in vitro propagation of *Sorbus torminalis* from juvenile material. Italus-Hortus, 7(5): 3-7.
 - Pourmajidian, M.R., 1999. Study of forestry and how *Sorbus* species reproduce in the Mazandaran western forests. Ph.D. Thesis in Forestry, Faculty of Natural Resources and Marine Sciences, Tarbiat Modares University, 257p.
 - Rotach, P., 1996. Noble hardwoods in Switzerland: 91-100. In: Turock, J., Eriksson, G., Kleinschmitt, J.

Effects of culture medium type and plant growth regulators on *in vitro* culture of *Sorbus persica* Hedl.

Z. Abravesh^{1*}, H. Zare² and M. Khoshnevis³

1*- Corresponding author, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran, E-mail: abravesh@rifr-ac.ir/ z.abravesh@gmail.com

2- Mazandaran Agricultural and Natural Resources Research Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Sari, Iran

3- Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran

Received: January 2021

Revised: July 2021

Accepted: August 2021

Abstract

Sorbus persica Hedl. is an Iranian endemic slow-growing tree (fam. rosaceae) and is endangered. It is important in terms of the gene storage, environmental protection, and medicinal uses. To *in vitro* propagate this species by the lateral bud culture, a factorial experiment was conducted in a completely randomized design in three levels of culture medium and three levels of cytokinin with three replications. For shooting, the DKW, WPM, and MS culture media containing the cytokinins BAP, Kin, and 2ip, and for rooting, the complete and modified DKW, WPM, and MS culture media containing the auxins NAA and IBA separately and in a consecutive application were investigated. The results showed that the best sterilization treatment was a consecutive application of sodium hypochlorite 20% (v/v, 15 min) and mercuric chloride 0.1% (3 min) in summer. The best proliferation and longitudinal growth of shoots was observed in the MS medium containing IBA (0.01 mg l⁻¹), Kin (0.25 mg l⁻¹), and BAP (3 mg l⁻¹) growth regulators. Also, the best rooting was obtained in the DKW medium with a quarter of the concentration of macroelements containing the NAA+IBA hormones (0.3+0.3 mg l⁻¹).

Keywords: Endemic, micropropagation, culture medium, *Sorbus persica* Hedl.