Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

نقش تنظیم‌کننده‌های رشد، غلظت ساکارز و سرمادهی بر پرآوری، رفع رکود و تولید پداژک در دو رقم گلایول

اشکانه کلانتری[۱]، پریسا کوباز[۲]*، مجید رستمی[۱]، محمد فتحی قره‌بابا[۲] و نرگس مجتهدی[۳]

[۱] گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر، ملایر

[۲] گروه فیزیولوژی مولکولی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی کرج

[۳] گروه کشت بافت، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی کرج

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۷/۱۶، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵)

چکیده

ریزازدیادی در محیط درون شیشه به‌عنوان جایگزین روش‌های تجاری برای تکثیر مورد توجه زیادی قرار گرفته است. با توجه به جایگاه گلایول در بازار گیاهان زینتی ایران و به‌منظور ارایه پروتکل مناسب جهت تکثیر پداژه‌های گلایول به‌روش کشت‌بافت جهت بررسی بهترین تیمار هورمونی برای ریشه‌زایی و تولید شاخساره از ترکیب سه سطح نفتالین استیک اسید و پنج سطح بنزیل آمینوپورین با دو نوع ریزنمونه جوانه رأسی و قسمت بالایی پداژه استفاده شد. در ادامه به‌منظور تولید پداژک از گیاهچه‌های تولیدشده از طریق کشت‌بافت از سه غلظت مختلف ساکارز در محیط‌کشت مایع استفاده شد. به‌منظور شکست خواب نیز از سرمادهی در زمان‌های مختلف استفاده شد. این آزمایشات به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. براساس نتایج تحقیق حاضر، بیشترین تعداد شاخساره (۱٤) و ریشه (۱۲) در محیط MS حاوی ۲ میلی‌گرم بر لیتر بنزیل آمینوپورین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر نفتالین استیک اسید در رقم White به‌دست آمد و بیشترین تعداد پداژک (۱۲ عدد) و بزرگترین قطر پداژک (۱٤/۵ میلی‌متر) مربوط به همین رقم در محیط MS حاوی ٦۰ گرم بر لیتر ساکارز بود. نتایج بررسی شکست خواب که با تیمار سرما در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد درسه زمان مختلف انجام شده بود حاکی از آن است که تیمار سرما به‌مدت سه ماه در هر دو رقم بهترین زمان برای شکستن دوره خواب است.

کلمات کلیدی: پداژک، دوره خواب، ریزازدیادی، نیاز سرمایی

مقدمه

گلایول (Gladiolus sp.)بزرگترین جنس (Gladiolus) از تیره زنبق‌ها (Iridaceae) است. این جنس دارای بیشتر از ۲٦۰ گونه است که برخی در درمان بیماری و اغلب به‌صورت زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. راحتی کار، مشکلات کمتر نسبت به سایر گیاهان شاخه بریده، پداژه‌ای بودن و تکثیر بسیار خوب از دلایل محبوبیت گلایول در بازار ایران است که آن را جزء اولین گیاهان پداژه‌ای با کاربرد زینتی قرار داده است. به‌دلیل تقاضای زیاد استفاده از این گل و زمان طولانی ایجاد پداژه‌های جدید با توان تولید تجاری هر ساله از کشورهای اروپایی (به خصوص هلند) پداژه گلایول به کشور وارد می‌شود. ریزازدیادی در محیط درون شیشه به‌عنوان یک روش جایگزین

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: pkoobaz@abrii.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

به جای روش‌های سنتی برای تکثیر رویشی گیاه است. این روش سطح تکثیر را چندین برابر افزایش داده و امکان تولید گیاهان عاری از ویروس و بیماری‌های دیگر را فراهم می‌کند. قطعات جداکشت مختلف از جمله نوک ساقه (Hussain *et al.*, 2001)، جوانه‌های رأسی (Priyakumari and Sheela, 2005)، قاعده برگ (Prasad and Gupta, 2006)، مریستم (Aftab *et al.*, 2008)، پداژه و پداژک، قطعاتی از گل آذین (Ziv and Lilien-Kipnis, 2000) برای باززایی گلایول در شرایط درون شیشه مورد آزمون قرار گرفته است. محققان (Aftab *et al.*, 2008) نشان دادند که پداژه‌های مورد استفاده منبع مناسب‌تری نسبت به مریستم برای باززایی هستند و قطعاتی که به‌صورت برعکس در محیط حاوی کاینتین قرار می‌گیرند پاسخ بهتری نشان می‌دهند. آزمایش روی ارقام تجاری گلایول نشان داد محیط‌کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) همراه با مقادیر بیشتر بنزیل آدنین و بنزیل آمینوپورین (BAP,BA) و مقادیر کمتر نفتالین استیک اسید (NAA) موجب پرآوری ساقه‌های گلایول می‌شوند البته میزان تنظیم‌کننده‌های رشد و محیط‌کشت بسته به نوع رقم متفاوت است (Priyakumari and Sheela, 2005). غلظت بالای ساکارز (۳–۵ درصد) و ۱میلی‌گرم در لیترBAP تولید پداژک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. استفاده از ساکارز بیشتر در محیط MS ۱/۲موجب بزرگ‌شدن پداژک می‌شود. برای تولید پداژک گلایول از قطعات مختلف جداکشت مثل جوانه گره‌ها (Arora *et al.*, 1996) نوک پداژک (Arora *et al.*, 1996) ساقه گل آذین (Ziv *et al.*, 1970) جوانه جانبی پداژه (Ahmad *et al.*, 2000; Begum and Haddiuzaman, 1995) و برش‌هایی از چشم‌های پداژک‌ها (Sinha and Roy, 2002) استفاده شده است. در بسیاری از گونه‌های پیازی مسأله خواب عامل بازدارنده در بلوغ پداژه‌ها و متعاقباً عدم‌رشد مناسب آنها تا رسیدن به اندازه مطلوب است. در عین حال، دوره خواب باعث می‌شود که گیاه قادر به تحمل شرایط نامناسب و استرس‌های محیطی شود. رفع خواب در شرایط درون شیشه‌ای با اعمال تیمار سرمادهی پداژه‌ها حاصل می‌گردد (Nuth *et al.*, 2002). دمای پایین به‌طور مستقیم باعث شکستن خواب پیازها و رشد جوانه پیاز می‌شود (Kawarabayashi, 1995; De Klerk and Paffen, 1995). همچنین استفاده متناوب از دمای بالا (۳۵درجه سانتی‌گراد) به همراه دمای پایین (۰–۵ درجه سانتی‌گراد) موجب شکستن خواب می‌شود (Tsukamoto and Yugi, 1960). مشکل خواب در اغلب پیازی‌ها از جمله گلایول موجب می‌شود تا برای رفع آن پداژک‌ها به‌مدت ٤ هفته در دمای ۲–۵ درجه سانتی‌گراد قرار گیرند (Hussey, 1997). مطالعه ٦ رقم گلایول نشان داد افزایش دمای نگهداری پداژه‌ها (۲۷ درجه سانتی‌گراد) موجب کاهش پارامترهای رشد رویشی و زایشی و مانع ایجاد و رشد پداژه‌های دختری و پداژک شده است. مناسب‌ترین دما برای نگهداری پداژه‌ها دمای ۸ درجه سانتی‌گراد است (Riaz *et al.*, 2009).

از آنجا که تولید پداژه‌های گلایول و ذخیره آنها مانند بذر (استفاده در زمان مناسب) می‌تواند مشکلات جابجایی و سازگاری این گیاه را کمتر کند، لذا در این تحقیق استفاده از قطعات جداکشت، ترکیبات مختلف هورمونی و محیط‌های با مقادیر مختلف ساکارز به‌منظور یافتن بهترین محیط جهت تولید پداژه مورد توجه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

این تحقیق در سال ۱۳۹٦ در آزمایشگاه‌های فیزیولوژی مولکولی و کشت‌بافت پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی کرج انجام شد. پداژه‌های دو رقم تجاری گلایول با نام‌های Rose superme و White از کشور هلند خریداری و در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد با رطوبت ۳۵ درصد در تاریکی نگهداری شدند. به‌منظور ضدعفونی‌کردن سطحی ابتدا پداژه‌ها کاملاً تمیز شده و ریشه‌های آنها گرفته شد. سپس به‌مدت ٤۰ ثانیه در الکل۷۰ درصد،۳۰ دقیقه هیپوکلریت سدیم ۵۰ درصد و ۳۰ دقیقه نانوسیلور ۲/۵ درصد (نانو نیترات نقره شرکت نانو نصب پارس) به‌روش غوطه‌وری قرار گرفته و در نهایت سه مرحله آبشویی با آب‌مقطر استریل به‌مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه انجام شد. محیط‌کشت مورد استفاده در این آزمایش شامل محیط پایه

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

MS حاوی آگار۰/۷ درصد و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز با pH=۵/۷ همراه با ترکیب ۵ غلظت بنزیل آمینوپورین (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و۲ میلی‌گرم بر لیتر) و ۳ غلظت نفتالین استیک اسید (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) است. قطعات مختلفی از پداژه (جوانه رأسی و قسمت بالایی پداژه) پس از ضدعفونی‌شدن به‌عنوان ریزنمونه استفاده شد. به‌منظور جلوگیری از آلودگی هر کدام از قطعات جداکشت داخل شیشه‌های مک کارتی حاوی محیط-کشت‌های مختلف قرار داده شدند. نمونه‌ها در اتاق رشد (فیتوترون) با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۱٦ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. این آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار (۵ نمونه در هر تکرار) انجام شد. فاکتورهای مورد آزمایش محیط‌کشت، رقم و قطعه جداکشت بودند. تعداد شاخساره و ریشه‌های رشد کرده از هر ریزنمونه به‌عنوان ملاک بهترین محیط انتخاب‌شده و هر دو هفته یکبار اقدام به نمونه‌گیری و ثبت نتایج شد (Dharmasena *et al.*, 2011).

به‌منظور بررسی اثر سه غلظت ساکارز (٦۰، ۳۰ و ۹۰ گرم در لیتر) در محیط MS مایع (محیط مناسب برای افزایش سایز پیاز در منابع) بر تولید پداژک در گیاهچه‌های تشکیل‌شده در مرحله قبل در دو رقم White prosperty، Rose Superme در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ ریزنمونه انجام شد (مجتهدی و آزادی، ۱۳۸۷). تعداد پداژک‌های تولیدشده از هر قطعه جداکشت و قطر آنها بر حسب میلی‌متر به‌عنوان شاخص مناسب‌ترین محیط برای تولید پداژک و رشد آن در نظر گرفته شد (Dharmasena *et al.*, 2011). یادداشت برداری در دو ماه اول و دوم انجام شده است که نقش زمان نیز در تولید پداژک‌ها مشخص شود.

همچنین به‌منظور رفع خواب پداژک‌های تولیدشده در آزمایش قبل به محیط MS منتقل شدند. پداژک‌های تولیدشده برای رفع خواب در محیط درون شیشه در مدت زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ماه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی با رطوبت نسبی۳۵ درصد سرمادهی‌شده و بعد از تیمار سرمایی به خاک منتقل شدند. داده‌برداری در این آزمایش هفته‌ای یکبار انجام شد. آزمایش در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ ریزنمونه انجام شد. درصد پداژک‌های رشدیافته پس از سرمادهی، تعداد و طول برگ تولیدشده از آنها به‌عنوان ملاک رشد مناسب در نظر گرفته شد (مجتهدی و آزادی، ۱۳۸۷). داده‌های جمع‌آوری شده از انجام آزمایش‌ها در مراحل مختلف با نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ مورد تجزیه آماری و با نرم‌افزار Excel رسم شدند و میانگین‌ها براساس روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه شدند. قبل از تجزیه واریانس در صورت نیاز، داده‌ها نرمال شدند.

نتایج و بحث

اثر محیط‌کشت، رقم و قطعه جداکشت بر تولید شاخساره و ریشه: همانطور که در شکل ۱ نشان داده شده است قطعات جوانه رأسی و قسمت بالایی پداژه پس از سه ماه ابتدا تولید شاخساره و سپس ریشه تولید کردند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی و نوع برش در تولید شاخساره و ریشه اثر معنی‌داری دارد ولی تأثیر رقم فقط بر تولید شاخساره معنی‌دار است (جدول ۱). همچنین اثر متقابل هر سه فاکتور مورد آزمایش معنی‌دار است. آنالیز مقایسه میانگین نشان داد که رقم Rose superme در محیط MS حاوی ۰/۲۵ نفتالین استیک اسید و ۰/۵ میلی‌گرم بنزیل آمینوپورین بیشترین تعداد ریشه‌زایی (۱۲ ریشه) را داشته است.

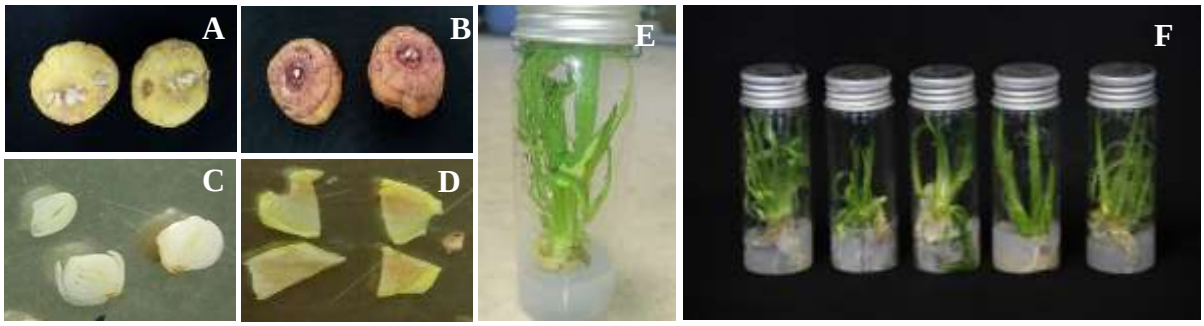
همچنین تعداد ١٤ شاخساره در رقم White در محیط MS حاوی ۰/۲۵ نفتالین استیک اسید و ۲ میلی‌گرم بنزیل آمینوپورین به‌عنوان بهترین تیمار تولید شاخساره در نظر گرفته شد. لازم به ذکر است قسمت بالایی پداژه در هر دو صفت به عنوان بهترین ریزنمونه بوده است (شکل ۲). با توجه به ساختار جوانه رأسی برای تولید یک پداژه جدید، استفاده از قطعات داخلی پداژه می‌تواند با دارابودن خصوصیت توتی پتنسی پتانسیل لازم برای ایجاد چندین شاخساره را داشته باشد (Bhojwani and Razdan, 1996). استفاده از نفتالین استیک

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

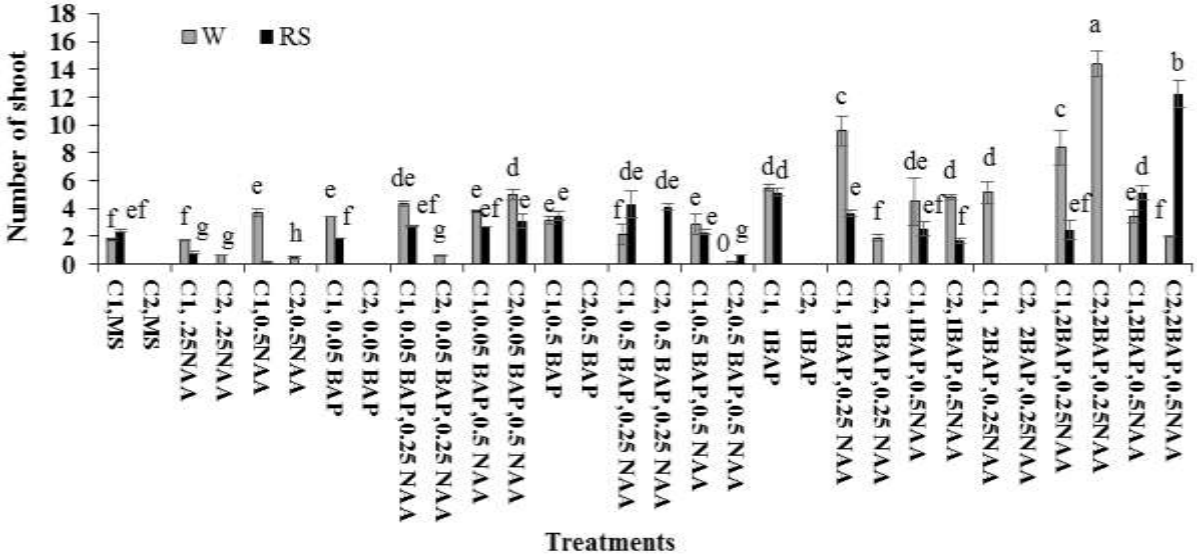
جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر رقم، محیط‌کشت و قطعه جداکشت بر تعداد شاخساره و ریشه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تعداد شاخساره	تعداد ریشه
رقم	۱	۲۰۸/۸۵**	۰/۶۷ ns
غلظت تنظیم‌کننده رشد	۱۴	۱۷۵/۳۹**	۸۷/۰۸**
قطعه جداکشت	۱	۵۴۱/۱**	۳۲/۳۶*
رقم × محیط کشت	۱۴	۱۸۵/۷**	۴۵/۰۸**
رقم × قطعه جداکشت	۱	۵۸/۴۱**	۹/۲۶ ns
محیط × قطعه جداکشت	۱۴	۸۰/۷۱**	۴۱/۸۲**
رقم × محیط کشت × قطعه جداکشت	۱۴	۵۷/۵۳**	۳۰/۱۷**
خطا	۱۱۲	۴/۹۹	۵/۱۴

** تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد، * تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns عدم معنی‌داری



شکل ۱- پداژه‌های ارقام White Prosperty (A) و Rose superme (B) قطعات جداکشت جوانه رأسی (C) و قسمت بالایی پداژه (D) جهت تولید شاخساره (E) و ریشه (F)



شکل ۲- تأثیر رقم، محیط و قطعه جداکشت بر تولید شاخساره. حروف مشترک بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. Rs=Rose Superme، W=White prosperty، C1= جوانه رأسی و C2= قسمت بالایی پداژه.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

اسید برای ریشه‌زایی و بنزیل آمینوپورین برای تولید شاخساره توسط محققین دیگر گزارش شده است (مجتهدی و آزادی، ۱۳۸۷). در گلایول رقم گرندی فلوروس تشکیل ۸۵ درصد پداژه از برگ در محیط MS همراه با ۱ میکرومول در لیتر بنزیل آدنین گزارش شده است (Nhut *et al.*, 2004).

استفاده از بنزیل آمینوپورین به میزان ٤ میلی‌گرم بر لیتر در محیط MS باعث ساقه‌دهی ۹۸ درصد از ریزنمونه‌ها شده؛ همچنین تعداد میانگین این شاخساره‌ها ۲۲ عدد بوده است (Memon *et al.*, 2013). همچنین در تحقیقی دیگر اثر بنزیل آمینوپورین به میزان ۱ میلی‌گرم در لیتر در محیط MS در گلایول به‌مدت ۱ ماه ۱۰ تا ۱۲ شاخساره تولید کرده است که این شاخه‌ها به ٤ قسمت تقسیم شده و در همین محیط واکشت شدند و بعد از ٦۰ روز از هر دسته ۱۰ تا ۱۵ شاخساره جدید به‌وجود آمدند (Sen and Sen, 1995). به کارگیری ۳ میلی‌گرم بنزیل آمینوپورین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم کانیتین بیشترین طول شاخساره را در گلایول با اندازه ٤/۲٤ سانتی‌متر را باعث شده است. (Shaheenuzzaman *et al.*, 2013).

تأثیر غلظت ساکارز بر تولید پداژک: نتایج نشان داد که غلظت ساکارز بر تعداد (جدول ۲) و قطر پداژک تأثیر معنی‌داری داشت (آورده نشده است). همچنین اثر متقابل رقم و ساکارز نیز در هر دو زمان داده‌برداری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

غلظت ٦۰ گرم در لیتر ساکارز در هر دو زمان نمونه‌برداری باعث تولید تعداد بیشتری پداژک با قطر بیشتر شده است (شکل ۳). لازم به ذکر است در غلظت ۳۰گرم برلیتر ساکارز هیچ پداژکی تولید نشده است. نوع رقم نیز بر هر دو صفت تأثیر معنی‌داری نشان داد. در بین ارقام مورد استفاده رقم White prosperty بیشترین تعداد پداژک با قطر بزرگ (١٤/٥ میلی‌متر) را در محیط MS با ٦۰ گرم ساکارز ایجاد نموده است. با افزایش غلظت ساکارز تا ٦۰ گرم در لیتر در هر دو رقم تعداد و قطر پداژک‌های تولیدشده افزایش یافت اما با افزایش غلظت به ۹۰ میلی‌گرم در لیتر، تعداد پداژک تولیدی در هر دو رقم کاهش معنی‌دار یافت. تنها در رقم Rose Superme افزایش غلظت موجب تولید پداژک‌های با قطر بیشتر شد (شکل ۳). همانطور که میزان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تولید پداژه مؤثر است غلظت ساکارز نیز در تولید پداژه نقش مؤثری دارد. در گلایول رقم White Friendship میزان ۵ میلی‌گرم نفتالین استیک اسید همراه با ٦۰ گرم بر لیتر ساکارز در محیط‌کشت MS باعث تولید پداژه شده است (Bera *et al.*, 2015). در گزارشی Jala نتیجه تحقیقات خود را اینگونه بیان کرد که استفاده از ۰/۱ میلی‌گرم نفتالین استیک اسید در محیط MS مقدار میانگین ۵/۸ پداژه را تولید کرده است که میزان ساکارز در این محیط ۳۰ گرم بر لیتر بوده است. افزایش و کاهش مقدار ساکارز به ٤۰ و ۲۰ گرم بر لیتر باعث کاهش تعداد پداژه‌ها شده است (Jala, 2013). در بررسی غلظت‌های صفر تا ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز گلایل رقم Friendship نشان داده شده است که با افزایش غلظت ساکارز به ٦۰ گرم در لیتر، درصد تشکیل پداژک افزایش یافته اما با افزایش بیشتر غلظت ساکارز درصد تشکیل کورم کاهش یافت به طوریکه در غلظت ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز هیچ پداژه‌ای تشکیل نشد (Dantu and Bhojwani, 1995).

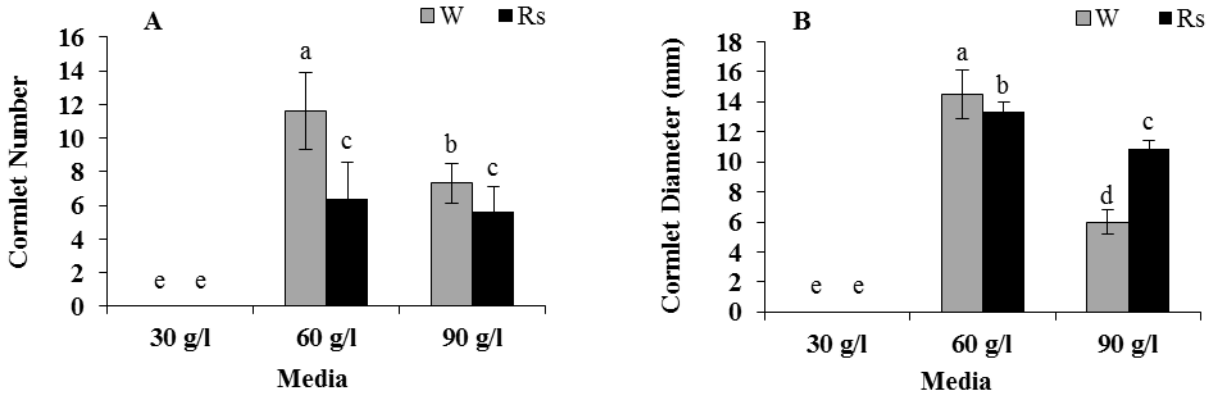
تأثیر سرما در شکست خواب: به‌منظور بررسی تأثیر سرما بر جوانه‌زنی و رشد پداژه‌های گلایول دو رقم Rose Superme و White prosperty در سه زمان ۱، ۲ و ۳ ماه در دمای٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و پس از این مدت در خاک کشت شدند. پس از کشت در زمان‌های مشخص داده‌برداری انجام شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد رقم، سرما و اثر متقابل هر دو عامل بر طول و تعداد برگ‌های رشدیافته از پداژک در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری نشان داده است (جدول ۳). شکل ٤ نشان داد رقم White prosperty در سرمای ۳ ماهه بهترین میزان رشد را داشته است. در واقع ۱۰۰٪ پداژک‌های تحت تیمار پس از سرمادهی رشد کردند ولی جوانه‌زنی در پداژک‌هایی که ۳ ماه سرما دیده بودند زودتر دیده شد (اطلاعات نمایش داده نشده است). رفع رکود پداژه گلایول یک عامل کلیدی ضروری برای رشد ساقه گل‌دهنده و داشتن گیاهی با کیفیت مناسب است. سطح بالای آبسیزیک اسید

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

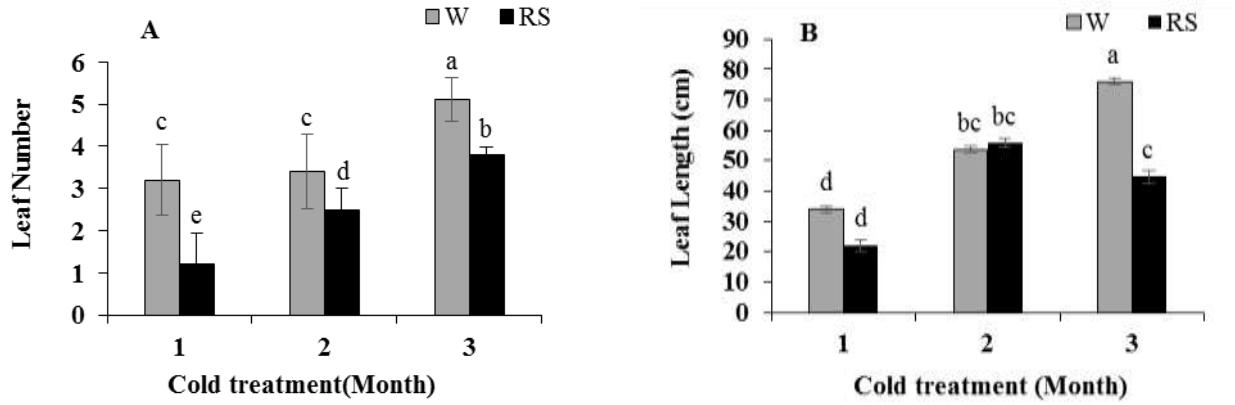
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر رقم و محیط‌کشت بر تعداد پداژک تولیدی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		ماه اول	ماه دوم
رقم	۱	۱۶/۰۲**	۲۴/۸۶**
ساکارز	۲	۱۰۸/۱۶**	۱۳۸۲/۱۷**
رقم × ساکارز	۲	۴/۵۲**	۵۸/۵۹**
خطا	۱۱	۱/۴	۰/۹۶

**** تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد، * تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns عدم معنی‌داری**



شکل ۳- مقایسه اثر متقابل محیط‌کشت و رقم بر تعداد (A) و قطر پداژک (B). حروف مشترک بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. Rs=Rose Superme و W=White prosperty.



شکل ٤- تأثیر تیمار سرمایی و رقم بر تعداد (A) و طول برگ (B) حروف مشترک بیانگر عدم‌اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. Rs=Rose Superme و W=White prosperty.

سبب رکود پداژه گلایول و بازدارندگی رشد آن است و سرما سیستم آنزیمی تجزیه‌کننده بازدارنده‌هایی مانند آبسیزیک اسید را فعال می‌کند. طی آزمایشی مشخص شد که با اعمال تیمار سرمایی قبل از کشت به‌صورت ۳ و ٦ هفته گلدهی به‌ترتیب ۲۰ و ۱۱ روز زودتر از شاهد اتفاق می‌افتد (Gonzalez-Padilla *et al.*, 2003). همچنین نگهداری پداژه‌های گلایول

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر تیمار سرما بر رشد پداژک

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		طول برگ	تعداد برگ
رقم	۱	۲۶۲۳**	۲۴/۹۵**
سرما	۲	۵۷۹۶**	۲۶/۲۴**
رقم × سرما	۲	۱۲۵۶**	۱/۶۵ ns
خطا	۱۲	۱۲۵	۱/۳۰

**** تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد، * تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد و ns عدم معنی‌داری**

رقم گراندی فلوروس در دمای ۱۲ درجه سانتی‌گراد نسبت به دمای ۸ درجه سانتی‌گراد موجب ۱۵ روز تأخیر در گلدهی شده است (Riaz, 2009).

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج آزمایش‌های صورت پذیرفته در این تحقیق، ریزازدیادی در گل گلایول جهت ازدیاد پداژه و تولید گل شاخه بریده روش بسیار مناسبی است. بهترین روش در کشت بافت گلایول تولید همزمان ساقه و ریشه است زیرا زمان برای تولید گیاه و پداژه به این صورت کمتر است. قطعات استوانه مرکزی در محیط MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل آمینوپورین همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید بیشترین تعداد شاخساره را تولید نموده و انتقال گیاهچه‌ها به محیط‌کشت MS حاوی ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز مناسب‌ترین محیط برای تولید پداژه است. برای شکست خواب نیز ۳ ماه سرمادهی در دمای ٤ درجه موجب رشد بیش از ۹۰ درصد پداژه‌های کشت بافتی در رقم White prosperty شد.

تشکر و قدردانی

این پروژه با بودجه پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی و همکاری بخش کشت‌بافت انجام شده است که بدین‌وسیله از همکاری آنها تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

مجتهدی، ن. و آزادی، پ. (۱۳۸۷) مقایسه پیازچه‌زایی در دو رقم تجاری سوسن *Lilium longiflorum* cv. Gironde و *L. longiflorum* cv. Cassandra در شرایط درون شیشه‌ای. مجله نهال و بذر ۲٤: ۷۲۱–۷۳۸.

Ahmad, T., Ahmad, M. S., Nasir, I. A. and Riazuddin, S. (2000) In vitro production of cormels in gladiolus. Pakistan Journal of Biological Science 3: 819-821

Arora, J. S., Singh, K., Grewal, H. S., Gosal, S. S. and Chanana, Y. R. (1996) In vitro cormel production from nodal buds and cormel tips in gladiolus. In: Plant tissue culture (ed. Islam, A. S.) Pp.50-53. Oxford and IBH publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi, Calcutta.

Aftab, F., Alam, M. and Afrasiab, H. (2008) In vitro shoot multiplication and callus induction in gladiolus hybridus. Horticuitural Pakistan Journal of Botany 40: 517-522.

Bera, A. K., Raj Maity, T., Samanta, A. and Data, S. (2015) Enhancement of in vitro corm production in gladiolus by periodically replacement of liquid media using coir matrix. Journal of Applied Horticulture 17: 222-224.

Begum, S. and Haddiuzaman, S. (1995) In vitro rapid shoot proliferation and corm development in *Glaiolus grandiflorus* cv. Redbrand. Plant Tissue Culture 5: 7-12.

Bhojwani, S. S. and Razdan, M. K. (1996) Plant Tissue Culture Theory and Practice. 1nd Ed. Elsevier Science.

Dantu, P. K. and Bhojwani, S. S. (1995) In vitro corm formation and field evaluation of corm-derived plants of Gladiolus. Scientia Horticulture (Amsterdam) 61: 115-129.

Dharmasena, P. A. I. U., Karunananda, D. P. and Eeswara, J. P. (2011) Effect of gibberellic acid (GA3) and sugar on in vitro cormlet formation, multiplication and ex vitro sprouting of *Gladiolus hybrida* variety princess lee tropical. Agricultural Research 23: 1-10.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

De Klerk, G. J. and Paffen, A. (1995) The effects of environmental conditions on sprouting of micropropagated lily bulblets with various levels of dormancy. Acta Botanical of Nederland 44: 33-39.

Gonzalez-Padilla, I. M., Webb, K. and Scorza, R. (2003) Early antibiotic selection and efficient rooting and acclimatization improve the production of transgenic plum plants (*Prunus domestica* L.). Plant Cell Reports 22: 38-45.

Grewal, H. S., Gosal, S. S., Arora, J. S. and Singh, K.(1990) Mass propagation of carnation, chrysanthemum and gladiolus through tissue culture. In: Proceedings of the 23th International Horticultural Congress, Florence, Italy.

Hussain, I., Muhammad, A., Rashid, H. and Quraishi, A. (2001) In vitro multiplication of Gladiolus (*Gladiolus crassifolius*). Plant Tissue Culture 11: 121-126.

Hussey, G. (1997) In vitro propagation of Gladiolus by precocious axillary shoot formation. Scientia Horticulture 6: 287-296.

Jala, A. (2013) Potential of benzyl adenine, naphthalene acetic acid and sucrose concentration on growth, development, and regeneration of new shoot and cormel on gladiolus. American Transactions on Engineering and Applied Sciences 2: 277-287.

Kawarabayashi,W. (1995) Advancing flowering of *Lilium japonicum* Thunb by cultivation of bulbs propagated in the simplified aerated liquid culture system. Journal of Japan Society Horticulture Science 64: 401-410.

Memon, N., Qasim, M., Jaskani, M. J., Khooharo, A. A., Hussain, Z., Ahmad, I. (2013) Comparison of various explants on the basis of efficient shoot regeneration in Gladiolus. Pakistan Journal of Botany 45: 877-885.

Nhut, D. T., Silva, J. A. T., Huyen, P. X., Paek, K. Y. (2004) The importance of explant source on regeneration and micropropagation of gladiolus by liquid shake culture. Scientia Horticulture 102: 407-414.

Nuth, D. T., Le, V. B., Minh, T. N., Texeira De Silva, J., Fukai, S., Tanaka, M. and Tanh Van, K. T. (2002) Somatic embryogenesis through pseudo-bulblet transverse thin cell layer of *Llilum longiflorum*. Plant Growth Regulation 37: 193-198.

Prasad, V. S. S. and Gupta, S. D. (2006) In vitro shoot regeneration of gladiolus in semisolid agar versus liquid cultures with support systems. Plant Cell Tissue and Organ Culture 87: 263-271.

Priyakumari, I. and Sheela, V. L. (2005) Micropropagation of gladiolus cv. 'Peach Blossom' through enhanced release of axillary buds. International Journal of Tropical Agriculture 43: 47-50.

Riaz, T., Nawaz Khan, S. and Javid, A. (2009) Response of some new hybrids of *Gladiolus grandiflorus* to different corm storage temperatures. International Journal of Agriculture and Biology 11: 498-500.

Sen, J. and Sen, S. (1995) Two-step bud culture technique for a high frequency regeneration of gladiolus corms. Scientia Horticulturae 64: 133-138

Sinha, P. and Roy, S. K. (2002) Plant regeneration through in vitro cormel formation from callus culture of *Gladiolus primulinus* Baker. Plant Tissue Culture 12: 139-145

Shaheenuzzaman, M. S., Karim, M. M. and. Noor, Z. U. (2013) In vitro shoot proliferation and development of micropropagation protocol from leaf disc of gladiolus. Journal of Bangladesh Agricultural University 9: 21-26.

Tsukamoto, Y. and Yagi, M. (1960) Dormancy of gladiolus corms VI. Effects of temperature treatment on breaking dormancy of gladiolus corms stored in a storage room and of those grown under different day length. Plant Cell Physiology 1: 221-230.

Ziv, M., Halevy, A. H. and Shilo, R. (1970) Organs and plantlet regeneration of gladiolus through tissue culture. Annual Botany 34: 671-676.

Ziv, M. and Lilien-Kipnis, H. (2000) Bud re-generation from inflorescence explants for rapid propagation of geophytes in vitro. Plant Cell Report 19: 845-850.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 16:45 IRST on Sunday March 7th 2021

The effect of growth regulators, sucrose density and cold treatment on proliferation, cormlet produce and breaking dormancy in two gladiolus cultivars

Ashkaneh Kalantari[1], Parisa koobaz[2*], majid Rostami[1], Mohammad Fathi Ghare baba[2], Narges Mojtahedi[3]

[1] Department of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran
[2] Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran
[3] Department of Tissue culture, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran
(Received: 08/10/2018, Accepted: 06/03/2019)

Abstract

Enhancement of in vitro micro corm production in Gladiolus as an alternative commercial method has been focus of attention. With respet to the position of Gladiolus in Iran's ornamental plants market and in order to provide the proper protocol for the proliferation of glycol corms by tissue culture method, the effect of different concentrations of naphthalene acetic acid (NAA) and benzyl aminopurine (BAP) in two explants and production of shoot and roots of two commercial gladiolus cultivars were investigated. In the next experiment the role of different concentrations of sucrose (in Murashige and Skoog plant growth liquid medium) in production of corms was studied and finally cold treatment in 3 times were used to break dormancy of propagated cormlets. All of the main experiments were conducted as factorial based on completely randomized design with 3 replications. The highest number of shoots (14) and roots (12) was observed in White cultivar with the treatments of 2mg/L BAP and 0.5 mg/ml NAA. Application of 60 g/L sucrose in MS media produced the highest number of cormlets (14) and also the largest cormlets (14.5 mm). Results of dormancy breaking experiment which performed at 4 °C for three periods showed that three months chilling at 4 °C was the best treatment to break dormancy in both cultivars.

Keywords: Cold stratification, Cormlet, Dormancy, Micro-propagation

Corresponding author, Email: Pkoobaz@abrii.ac.ir