

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

اشکانه کلانتری<sup>۱</sup>، پریسا کوباز<sup>۲\*</sup>، مجید رستمی<sup>۱</sup>، محمد فتحی قره‌بابا<sup>۲</sup> و نرگس مجتهدی<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> گروه زراعت، دانشکده کشاورزی دانشگاه ملایر، ملایر

<sup>۲</sup> گروه فیزیولوژی مولکولی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی کرج

<sup>۳</sup> 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 گلابول در بازار گیاهان زینتی ایران و به‌منظور ارایه پروتکل مناسب جهت تکثیر پداژهای گلابول 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 پداژ 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 (۱۴) 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 (۱۴/۵ میلی‌متر) مربوط به همین رقم در محیط MS حاوی ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز بود. نتایج بررسی شکست خواب که با تیمار سرما در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در سه 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

دلایل محبوبیت گلابول 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 پداژهای جدید با توان تولید تجاری هر ساله از کشورهای اروپایی (به خصوص هلند) پداژ گلابول به کشور وارد می‌شود. ریزازدیادی در محیط درون شیشه به‌عنوان یک روش جایگزین

گلابول (*Gladiolus sp.*) بزرگترین جنس (*Gladiolus*) از تیره زنبق‌ها (*Iridaceae*) است. این جنس دارای بیشتر از ۲۶۰ 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

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

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 جداگشت 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)، پدازه و پداژک، قطعاتی از گل آذین (Ziv and Lilien-Kipnis, 2000) برای باززایی گلابول در شرایط درون شیشه مورد آزمون قرار گرفته است. محققان (Aftab *et al.*, 2008) نشان دادند که پدازه‌های مورد استفاده منبع مناسب‌تری نسبت به مریستم برای باززایی هستند و قطعاتی که به صورت برعکس در محیط حاوی کایتین قرار می‌گیرند پاسخ بهتری نشان می‌دهند. آزمایش روی ارقام تجاری گلابول 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 گلابول می‌شوند البته میزان تنظیم‌کننده‌های رشد و محیط‌کشت بسته به نوع رقم متفاوت است (Priyakumari and Sheela, 2005). غلظت بالای ساکارز (۳-۵ درصد) و ۱ میلی‌گرم در لیتر BAP تولید پداژک‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد. استفاده از ساکارز بیشتر در محیط MS ۱/۲ موجب بزرگ‌شدن پداژک می‌شود. برای تولید پداژک گلابول از قطعات مختلف جداگشت مثل جوانه گره‌ها (Arora *et al.*, 1996) نوک پداژک (Arora *et al.*, 1996) ساقه گل آذین (Ziv *et al.*, 1970) جوانه جانبی پدازه (Ahmad *et al.*, 1995) و برش‌هایی از چشم‌های پداژک‌ها (Sinha and Roy, 2002) استفاده شده است. در بسیاری از گونه‌های پیازی مسأله خواب عامل بازدارنده در بلوغ پدازه‌ها 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 پدازه‌ها 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 (۳۵ درجه سانتی‌گراد) به همراه دمای پایین (۰-۵ درجه سانتی‌گراد) موجب شکستن خواب می‌شود (Tsukamoto and Yugi, 1960). مشکل خواب در اغلب پیازی‌ها از جمله گلابول موجب می‌شود تا برای رفع آن پداژک‌ها به مدت ۴ هفته در دمای ۲-۵ درجه سانتی‌گراد قرار گیرند (Hussey, 1997). مطالعه ۶ رقم گلابول نشان داد افزایش دمای نگهداری پدازه‌ها (۲۷ درجه سانتی‌گراد) موجب کاهش پارامترهای رشد رویشی و زایشی و مانع ایجاد و رشد پدازه‌های دخترتری و پداژک شده است. مناسب‌ترین دما برای نگهداری پدازه‌ها دمای ۸ درجه سانتی‌گراد است (Riaz *et al.*, 2009).

#### مواد و روش‌ها

از آنجا که تولید پدازه‌های گلابول 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 جداگشت، ترکیبات مختلف هورمونی و محیط‌های با مقادیر مختلف ساکارز به‌منظور یافتن بهترین محیط جهت تولید پدازه مورد توجه قرار گرفته است.

این تحقیق در سال ۱۳۹۶ در آزمایشگاه‌های فیزیولوژی مولکولی و کشت‌بافت پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی کرج انجام شد. پدازه‌های دو رقم تجاری گلابول با نام‌های Rose superme و White از کشور هلند خریداری و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با رطوبت ۳۵ درصد در تاریکی نگهداری شدند. به‌منظور ضدعفونی کردن سطحی ابتدا پدازه‌ها کاملاً تمیز شده و ریشه‌های آنها گرفته شد. سپس به مدت ۴۰ ثانیه در الکل ۷۰ 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 آب مقطر استریل به مدت ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه انجام شد. محیط‌کشت مورد استفاده در این آزمایش شامل محیط پایه

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 پدازک‌های 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 پدازه 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 ۱۴ 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 پدازه در هر دو صفت به عنوان بهترین ریزنمونه بوده است (شکل ۲). با توجه به ساختار جوانه رأسی برای تولید یک پدازه جدید، استفاده از قطعات داخلی پدازه می‌تواند با دارا بودن خصوصیت توتی پتسی پتانسیل لازم برای ایجاد چندین شاخساره را داشته باشد (Bhojwani and Razdan, 1996). استفاده از نفتالین استیک

MS حاوی آگار ۰/۷ درصد و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز با pH=۵/۷ همراه با ترکیب ۵ غلظت بنزیل آمینوپورین (صفر، ۰/۲۵، ۰/۵، ۱ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر) و ۳ غلظت نفتالین استیک اسید (صفر، ۰/۲۵ و ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر) است. قطعات مختلفی از پدازه (جوانه رأسی و قسمت بالایی پدازه) 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، ۱۶ 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).

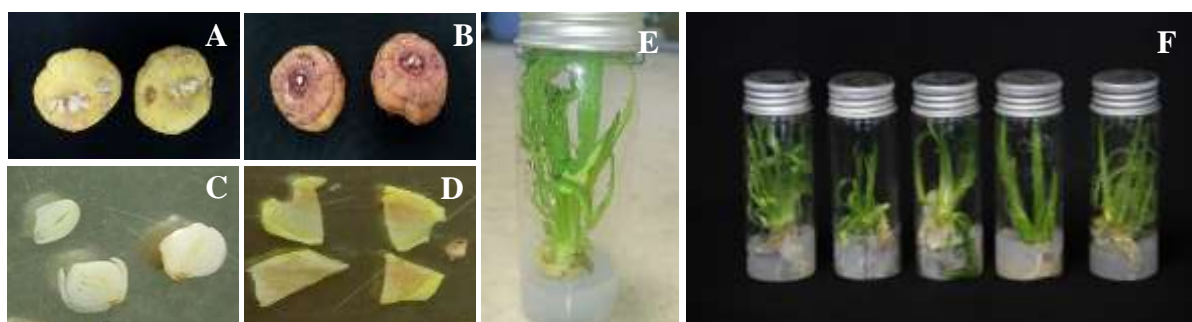
به‌منظور بررسی اثر سه غلظت ساکارز (۶۰، ۳۰ و ۹۰ گرم در لیتر) در محیط MS مایع (محیط مناسب برای افزایش سبزی پياز در منابع) بر تولید پدازک در گیاهچه‌های تشکیل‌شده در مرحله قبل در دو رقم Rose Superme, White prosperity در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ ریزنمونه انجام شد (مجتهدی و آزادی، ۱۳۸۷). تعداد پدازک‌های تولیدشده از هر قطعه جداکشت و قطر آنها بر حسب میلی‌متر به‌عنوان شاخص مناسب‌ترین محیط برای تولید پدازک 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 پدازک‌ها مشخص شود.

همچنین به‌منظور رفع خواب پدازک‌های تولیدشده در آزمایش قبل به محیط MS منتقل شدند. پدازک‌های تولیدشده برای رفع خواب در محیط درون شیشه در مدت زمان‌های ۱، ۲ و ۳ ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در شرایط تاریکی با رطوبت نسبی ۳۵ درصد سرمادهی شده و بعد از تیمار سرمایی

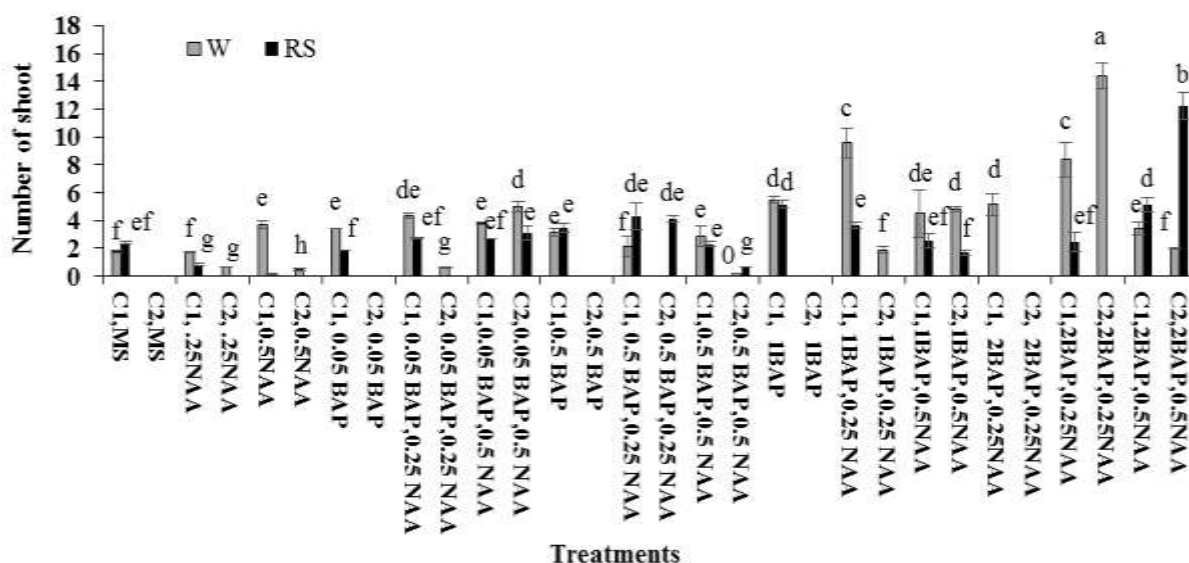
جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر رقم، محیط کشت و قطعه جداکشت بر تعداد شاخساره و ریشه

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		تعداد شاخساره	تعداد ریشه
رقم	۱	۲۰۸/۸۵**	۰/۶۷ <sup>ns</sup>
غلظت تنظیم کننده 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 <sup>ns</sup>
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 معنی دار در سطح یک درصد، \* تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد و ns عدم معنی داری



شکل ۱- پدازه‌های ارقام (A) White Prosperity و (B) Rose superme و (C) و (D) قسمت بالایی پدازه (E) جهت تولید شاخساره و (F) ریشه



شکل ۲- تأثیر رقم، محیط و قطعه جداکشت بر تولید شاخساره. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. C1= جوانه رأسی و C2= قسمت بالایی پدازه. W=White prosperity .RS=Rose Superme

افزایش غلظت موجب تولید پدازک‌های با قطر بیشتر شد (شکل ۳). همانطور که میزان تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در تولید پدازه مؤثر است غلظت ساکارز نیز در تولید پدازه نقش مؤثری دارد. در گلابول رقم White Friendship میزان ۵ میلی‌گرم نفتالین استیک اسید همراه با ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز در محیط‌کشت MS باعث تولید پدازه 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 پدازه را تولید کرده است که میزان ساکارز در این محیط ۳۰ گرم بر لیتر بوده است. افزایش کاهش مقدار ساکارز به ۴۰ و ۲۰ گرم بر لیتر باعث کاهش تعداد پدازه‌ها شده است (Jala, 2013). در بررسی غلظت‌های صفر تا ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز گلابول رقم Friendship نشان داده شده است که با افزایش غلظت ساکارز به ۶۰ گرم در لیتر، درصد تشکیل پدازک افزایش یافته اما با افزایش بیشتر غلظت ساکارز درصد تشکیل کورم کاهش یافت به طوری که در غلظت ۱۲۰ گرم در لیتر ساکارز هیچ پدازه‌ای تشکیل نشد (Dantu and Bhojwani, 1995).

**تأثیر سرما در شکست خواب:** به‌منظور بررسی تأثیر سرما بر جوانه‌زنی و رشد پدازه‌های گلابول دو رقم Rose Superme و White prosperity در سه زمان ۱، ۲ و ۳ ماه در دمای ۴ 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 پدازک در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری نشان داده است (جدول ۳). شکل ۴ نشان داد رقم White prosperity در سرمای ۳ ماهه بهترین میزان رشد را داشته است. در واقع ۱۰۰٪ پدازک‌های تحت تیمار پس از سرمادهی رشد کردند ولی جوانه‌زنی در پدازک‌هایی که ۳ ماه سرما دیده بودند زودتر دیده شد (اطلاعات نمایش داده نشده است). رفع رکود پدازه گلابول یک عامل کلیدی ضروری برای رشد ساقه گل‌دهنده و داشتن گیاهی با کیفیت مناسب است. سطح بالای آبسیزیک اسید

اسید برای ریشه‌زایی و بنزیل آمینوپورین برای تولید شاخساره توسط محققین دیگر گزارش شده است (مجتهدی و آزادی، ۱۳۸۷). در گلابول رقم گرندی فلوروس تشکیل ۸۵ درصد پدازه 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 ۴ 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 گلابول به مدت ۱ ماه ۱۰ تا ۱۲ شاخساره تولید کرده است که این شاخه‌ها به ۴ قسمت تقسیم شده و در همین محیط واگشت شدند و بعد از ۶۰ 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 کانتین بیشترین طول شاخساره را در گلابول با اندازه ۴/۲۴ سانتی‌متر را باعث شده است. (Shaheenuzzaman et al., 2013).

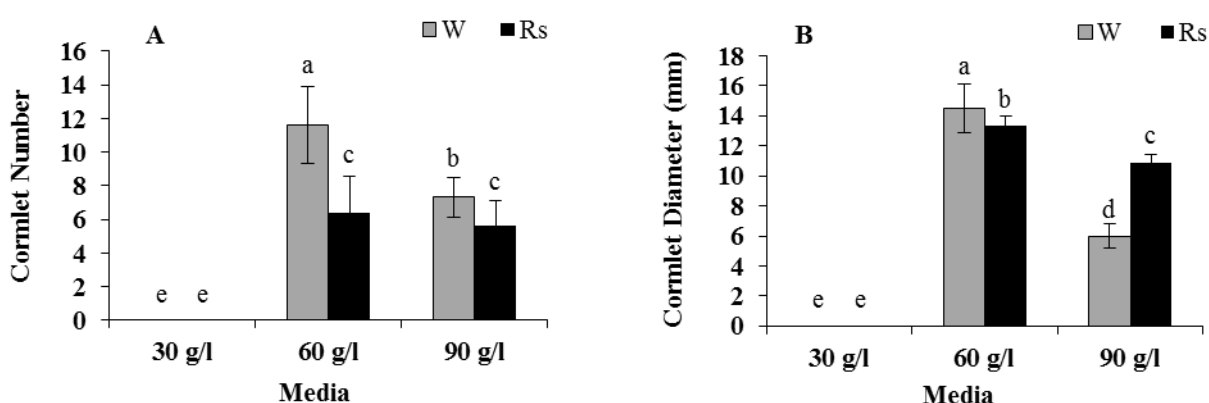
**تأثیر غلظت ساکارز بر تولید پدازک:** نتایج نشان داد که غلظت ساکارز بر تعداد (جدول ۲) و قطر پدازک تأثیر معنی‌داری داشت (آورده نشده است). همچنین اثر متقابل رقم و ساکارز نیز در هر دو زمان داده‌برداری در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد.

غلظت ۶۰ گرم در لیتر ساکارز در هر دو زمان نمونه‌برداری باعث تولید تعداد بیشتری پدازک با قطر بیشتر شده است (شکل ۳). لازم به ذکر است در غلظت ۳۰ گرم بر لیتر ساکارز هیچ پدازکی تولید نشده است. نوع رقم نیز بر هر دو صفت تأثیر معنی‌داری نشان داد. در بین ارقام مورد استفاده رقم White prosperity بیشترین تعداد پدازک با قطر بزرگ (۱۴/۵ میلی‌متر) را در محیط MS با ۶۰ گرم ساکارز ایجاد نموده است. با افزایش غلظت ساکارز تا ۶۰ گرم در لیتر در هر دو رقم تعداد و قطر پدازک‌های تولیدشده افزایش یافت اما با افزایش غلظت به ۹۰ میلی‌گرم در لیتر، تعداد پدازک تولیدی در هر دو رقم کاهش معنی‌دار یافت. تنها در رقم Rose Superme

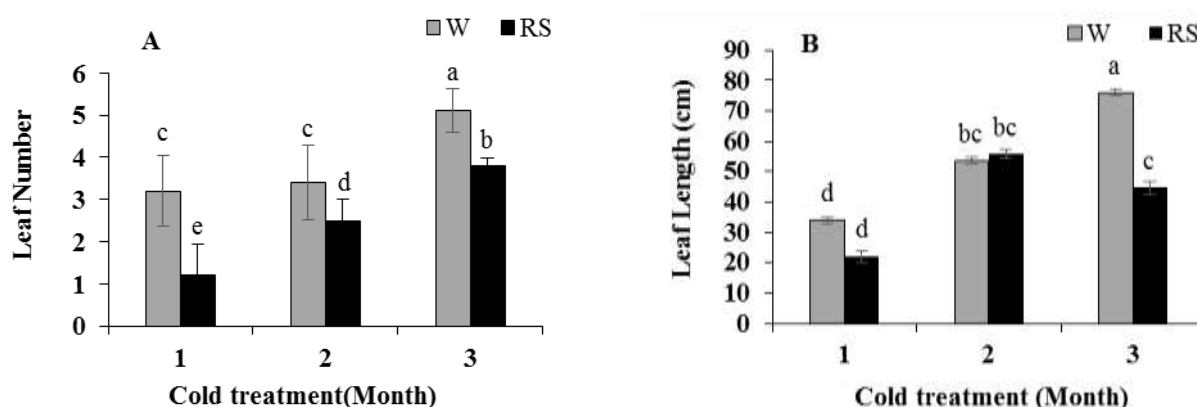
جدول ۲- تجزیه واریانس تأثیر رقم و محیط کشت بر تعداد پدازک تولیدی

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 معنی دار در سطح یک درصد، \* تفاوت معنی دار در سطح پنج درصد و ns عدم معنی داری



شکل ۳- مقایسه اثر متقابل محیط کشت و رقم بر تعداد (A) و قطر پدازک (B). حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. W=White prosperity و Rs=Rose Superme.



شکل ۴- تأثیر تیمار سرمایی و رقم بر تعداد (A) و طول برگ (B) حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آزمون دانکن هستند. W=White prosperity و Rs=Rose Superme.

سرمایی قبل از کشت به صورت ۳ و ۶ هفته گلدهی به ترتیب ۲۰ و ۱۱ روز زودتر از شاهد اتفاق می افتد (Gonzalez - Padilla et al., 2003). همچنین نگهداری پدازه های گلابول

سبب رکود پدازه گلابول و بازدارندگی رشد آن است و سرما سیستم آنزیمی تجزیه کننده بازدارنده هایی مانند آبسزیک اسید را فعال می کند. طی آزمایشی مشخص شد که با اعمال تیمار

جدول ۳- تجزیه واریانس تاثیر تیمار سرما بر رشد پدازک

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 <sup>ns</sup>
خطا	۱۲	۱۲۵	۱/۳۰

\*\* تفاوت معنی‌دار در سطح یک درصد، \* تفاوت معنی‌دار در سطح پنج درصد و <sup>ns</sup> عدم معنی‌داری

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 پدازه است. برای شکست خواب نیز ۳ ماه سرمادهی در دمای ۴ درجه موجب رشد بیش از ۹۰ درصد پدازه‌های کشت بافتی در رقم *White prosperity* 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.

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 گلائیول جهت ازدیاد پدازه و تولید گل شاخه بریده روش بسیار مناسبی است. بهترین روش در کشت بافت گلائیول تولید همزمان ساقه و ریشه است زیرا زمان برای تولید گیاه و پدازه به این صورت کمتر است. قطعات استوانه مرکزی در محیط MS حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر بنزیل

#### 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 ۲۴: 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. Horticultural 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. 1<sup>nd</sup> 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.

- 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 Botanica Neerlandica* 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 23<sup>th</sup> 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 Horticulturae* 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 Horticulturae* 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 *Lilium 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.

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

Ashkaneh Kalantari<sup>1</sup>, Parisa koobaz<sup>2\*</sup>, majid Rostami<sup>1</sup>, Mohammad Fathi Ghare baba<sup>2</sup>, Narges Mojtahedi<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran

<sup>2</sup> Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, AREEO, Karaj, Iran

<sup>3</sup> 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 respect 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