اثر ترکیبات هورمونی مختلف بر ریزازدیادی پانزده رقم ژربرا (*Gerbera jamesonii* Bolus ex Hooker f.)

سیده مهدیه خرازی[۱]، احمد شریفی[۲]*، فاطمه کیخا آخر[۳]، عبدالرضا باقری[۴] و مریم مرادیان[۵]

۱- استادیار پژوهشی، گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

۲-***نویسنده مسئول:** استادیار پژوهشی، گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران (ahmadsharifi66@yahoo.com)

۳- استادیار، گروه بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه جهرم، جهرم، ایران

۴- استاد، گروه بیوتکنولوژی و بهنژادی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۵- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد رشته بیوتکنولوژی و بهنژادی، ، گروه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۷/۱۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۲/۲۷

چکیده

ژربرا یکی از مهم‌ترین گیاهان زینتی می‌باشد که به‌صورت گل بریده و گیاه گلدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد. روش‌های معمول تکثیر کارایی تامین تقاضای جهانی برای این گیاه زینتی را ندارد. لذا عمومی‌ترین سیستم برای ازدیاد تجاری ژربرا، ریزافزایی می‌باشد. در این پژوهش، اثر تیمارهای هورمونی مختلف و رقم بر تکثیر و ریشه‌زایی ریزنمونه نوک شاخساره پانزده رقم ژربرا مورد بررسی قرار گرفت. در مرحله تکثیر از محیط کشت MS حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و یا KIN در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA و یا محیط کشت فاقد هورمون، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار استفاده گردید و جهت ریشه‌زایی گیاهچه‌های تکثیر شده از محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، IAA، 2IP و یا محیط کشت MS ½ فاقد هورمون، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار استفاده شد. نتایج نشان داد که در مرحله تکثیر، در کلیه ارقام مورد مطالعه، محیط کشت حاوی هورمون بنزیل آدنین منجر به بیشترین پرآوری شاخساره گردید. همچنین نتایج نشان داد که ریشه‌زایی شاخساره‌های ژربرا تحت تأثیر رقم قرار گرفت و ترکیب هورمونی مناسب جهت ریشه‌زایی پانزده رقم ژربرا متفاوت بود. با این حال نکته قابل توجه در مرحله ریشه‌زایی، قابلیت سازگاری مناسب گیاهچه‌های تکثیر شده می‌باشد. در محیط کشت MS ½، تعداد و طول ریشه‌های تولیدی در حد متوسط سایر تیمارها قرار داشت ولی با این حال گیاهچه‌های تولید شده در این محیط کشت، قابلیت سازگاری مطلوبی داشتند و علاوه بر این، هزینه مازاد جهت مصرف هورمون‌های ریشه‌زایی مصرف نگردید و هزینه تولید تجاری کاهش یافت. لذا کاربرد این محیط کشت جهت ریشه‌زایی ارقام مختلف ژربرا توصیه می‌گردد. در نهایت سازگاری گیاهچه‌های تولید شده در بستر کشت حاوی کوکوپیت و پرلیت با موفقیت ۹۵ درصد انجام شد.

کلید واژه‌ها: بنزیل آدنین، تکثیر، ریشه‌زایی، محیط کشت، نوک شاخساره

مقدمه

ژربرا با نام علمی *Gerbera jamesonii*، از جمله گیاهان زینتی است که در حال حاضر بیشترین سطح زیر کشت آن مربوط به غرب اروپا می‌باشد. این گیاه به صورت گل بریدنی و گلدانی مورد استفاده قرار می‌گیرد و در صنعت گل به دلیل سازگاری با صنعت حمل و نقل، ماندگاری خوب و قیمت مناسب جایگاه ویژه‌ای دارد (Kanwar and Kumar, 2008). سطح زیر کشت گیاه ژربرا در فلسطین اشغالی، از ۴۹ هکتار در سال ۱۹۹۵به ۵۸ هکتار در سال ۲۰۰۴ افزایش یافت و در سال

۲۰۰۸، ۳۱ میلیون شاخه گل ژربرا در این کشور تولید گردید. آمریکا نیز در سال ۲۰۱۳، حدود ۹۹ میلیون شاخه گل ژربرا تولید نمود. سطح زیر کشت این گیاه زینتی در سال ۲۰۱۲، در آلمان ۱۴ هکتار، ژاپن ۹۲ هکتار و هلند ۱۷۰ هکتار بوده است (Hubner, 2014). روش‌های معمول تکثیر (تقسیم بوته و قلمه‌زدن) کارایی تأمین تقاضای جهانی برای این گیاه زینتی را ندارد. از بذر نیز برای تکثیر این گیاه استفاده نمی‌شود، زیرا علاوه بر طولانی بودن دوره رشد، باعث تولید جمعیت‌های هتروزیگوت با رنگ گل، اندازه و فرم متنوع می‌شود و گیاهان به‌دست آمده مشابه گیاه مادری نیستند. لذا عمومی‌ترین سیستم برای ازدیاد تجاری ژربرا ریزافزایی می‌باشد (Kanwar and Kumar, 2008؛ Gerado, 2002). از ریزنمونه‌ها (نوک شاخه، جوانه گل، برگ، ساقه، کاپیتول و ...) و محیط کشت‌های مختلفی جهت ریزافزایی ژربرا استفاده شده است. اما در تکثیر تجاری بیشتر از دو ریزنمونه نوک شاخه و کاپیتول نابالغ جهت تکثیر به روش شاخه‌زایی جانبی و ایجاد جوانه استفاده می‌شود و از خصوصیات مهم این روش توانایی تکثیر تعداد زیاد گیاهچه با خصوصیات یکسان می‌باشد (Reynoird *et al.*, 1993). از سوی دیگر، ارقام مختلف عکس‌العمل‌های متفاوتی به باززایی در شرایط درون شیشه‌ای نشان می‌دهند. به‌طوری‌که لازم است ترکیب هورمونی محیط کشت برای هر رقم بهینه شود و برای هر رقم دستورالعملی جداگانه تهیه شود. لذا این پژوهش با هدف بهینه سازی شرایط کشت درون شیشه‌ای برای تکثیر و ریشه‌زایی پانزده رقم ژربرا صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

انتخاب و ضدعفونی ریزنمونه‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۵ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی واحد خراسان رضوی اجرا گردید. به منظور انتخاب و ضدعفونی ریزنمونه نوک شاخساره، ابتدا گیاهان شاداب، عاری از بیماری و در مرحله رشد فعال انتخاب و جهت تهیه ریزنمونه به آزمایشگاه منتقل شدند. برای ضدعفونی پایه‌های گیاهی ابتدا برگ‌ها و سایر قسمت‌های زائد گیاه حذف شدند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در زیر آب جاری و چند قطره مایع شوینده رایج شستشو داده شدند تا گرد و غبار و همچنین مواد زائد دیگر از سطح آن برطرف گردد. در مرحله بعد نمونه‌های مورد نظر ابتدا به محلول حاوی ۱/۵ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۵ دقیقه و سپس محلول حاوی ۰/۱ درصد کلرید جیوه به مدت ۵ دقیقه منتقل گردیدند. به منظور کاهش کشش سطحی و افزایش سطح تماس گیاه و ماده گندزدا، بسته به حجم محلول گندزدا ۲ تا ۳ قطره توین ۲۰ به محلول ضدعفونی اضافه شد. در پایان مدت ضدعفونی، ریزنمونه‌ها تحت شرایط استریل در زیر هود لامینار ۳ مرتبه در بازه‌های زمانی ۵، ۱۰ و ۱۵ دقیقه با آب مقطر استریل آبکشی شدند. پس از آن نمونه‌ها در داخل پتری‌دیش روی کاغذ صافی استریل قرار داده شدند. قسمت‌های جانبی آسیب دیده بافت، جدا گردیدند و ریزنمونه‌های نوک شاخساره به طول ۰/۵ تا ۰/۷ سانتی‌متر تهیه شدند و به محیط کشت حاوی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی منتقل گردیدند.

آزمایش اول: تکثیر ریزنمونه‌های نوک شاخساره

به منظور بررسی اثر ترکیب هورمونی و رقم بر تکثیر درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های نوک شاخساره پانزده رقم ژربرا، ریزنمونه‌های ارقام مختلف ژربرا (که در ادامه اسامی آن‌ها ذکر خواهد شد) در محیط کشت نیمه‌جامد موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و یا KIN در ترکیب با ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA و یا محیط کشت فاقد هورمون، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار، pH=۵/۷ کشت گردیدند. محیط کشت‌ها در ویال‌هایی (با حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر) به میزان ۱۵ میلی‌لیتر توزیع گردیده و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱/۵ اتمسفر اُتوکلاو گردید. پس از کشت، نمونه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس) در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از گذشت چهار هفته عکس‌العمل ریزنمونه‌ها (تعداد و طول شاخساره‌های

تکثیر شده، تعداد و طول ریشه‌های تولید شده) مورد ارزیابی قرارگرفت. ارقام مورد استفاده در این آزمایش به شرح زیر می باشند:

۱: Aventura، ۲: Barones، ۳: Mayfair، ۴: Cacharelle، ۵: Real، ۶: Sorbet، ۷: Dalma، ۸: Goldy، ۹: Panama، ۱۰: Lancaster، ۱۱: Dune، ۱۲: Bellavue، ۱۳: Blinddate، ۱۴: Applause، ۱۵: Sunway.

آزمایش دوم: ریشه‌زایی شاخساره‌های حاصل از ریزنمونه‌های نوک شاخساره

برای سازگار نمودن گیاهچه‌های حاصل از کشت‌بافت با شرایط برون شیشه‌ای، دارا بودن ریشه‌های مطلوب و با کیفیت امری ضروری است. در این بخش از پژوهش به بررسی اثر ترکیب‌های مختلف محیط کشت بر ریشه‌زایی پانزده رقم مختلف ژربرا پرداخته شد. برای انجام این آزمایش، شاخساره‌های حاصل از آزمایش قبل، در محیط های کشت نیمه‌جامد MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، IAA، 2IP و یا محیط کشت MS ½ فاقد هورمون، ۳ درصد ساکارز، ۸ گرم در لیتر آگار، pH=۵/۷ کشت گردیدند. پس از کشت، ریزنمونه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۳۰۰۰-۲۵۰۰ لوکس) در دمای ۱±۲۵ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. پس از ۳۰ روز پارامترهایی نظیر تعداد و طول ریشه‌های تولید شده، تعداد ریشه‌های ثانویه، تعداد برگ و طول شاخساره مورد ارزیابی قرار گرفتند. در نهایت گیاهان ریشه دار شده به گلدان‌های حاوی پرلیت: کوکوپیت به نسبت ۱:۲ منتقل شدند و مراحل سازگاری در شرایط محیطی ۲ ± ۲۳، ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با میزان موفقیت ۹۵ درصد صورت گرفت و سپس گیاهان سازگار شده به شرایط گلخانه انتقال یافتند.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

آزمایش‌های اول و دوم به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به‌ترتیب با ۶ و ۵ تکرار بود. آماده‌سازی داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار JMP8 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت. تبدیل داده‌های درصدی با استفاده از فرمول ((ArcSin Sqrt (X/100) صورت گرفت.

نتایج و بحث

آزمایش اول: تکثیر ریزنمونه‌های نوک شاخساره پانزده رقم ژربرا

نتایج تجزیه واریانس حاصل از این آزمایش نشان داد که اثر ساده رقم و تیمار هورمونی و همچنین اثرات متقابل آنها در سطح احتمال ۱ درصد بر تمامی صفات مورد ارزیابی معنی‌دار بود (جدول ۱). در ارزیابی اثر تیمار هورمونی محیط کشت و رقم بر تعداد شاخساره پرآوری شده، بین ارقام مورد بررسی در ترکیب‌های هورمونی مختلف تفاوت معنی‌دار بود. بیشترین پرآوری شاخساره در ارقام 'Lancaster' و 'Blinddate' به‌ترتیب با میانگین ۷/۶۷ و ۷/۵۰ در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیترهورمون IAA مشاهده گردید. کمترین تعداد تولید شاخساره در ارقام 'Goldy'، 'Dune' و 'Applause' در محیط کشت MS فاقد هورمون، با میانگین ۱ عدد گیاهچه مشاهده گردید. به‌طورکلی در کلیه ارقام، تعداد شاخساره تولید شده در محیط کشت حاوی بنزیل آدنین نسبت به سایر محیط کشت‌ها بیشتر بود (جدول ۲).

در رابطه با طول شاخساره تولید شده، عکس‌العمل ارقام در ترکیبات مختلف محیط کشت متفاوت بود. به‌طوری‌که بیشترین طول شاخساره در رقم 'Sunway' و پس از آن رقم 'Blinddate' و در محیط کشت MS فاقد هورمون مشاهده گردید. از سوی دیگر کمترین ارتفاع گیاهچه تولید شده در رقم 'Blinddate' و در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IAA مشاهده شد. در اکثر ارقام، گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت فاقد هورمون بیشترین ارتفاع را داشته و گیاهچه‌های تکثیر شده در محیط کشت حاوی هورمون سیتوکنین، ارتفاع کمتری داشتند (جدول ۳).

شکل ۱- اثر رقم بر گیاهچه‌های تکثیر شده ژربرا، تصویر سمت راست: رقم 'Lancaster' و تصویر سمت چپ: رقم 'Sunway'
Figure 1. Effect of cultivar on proliferated plantlet of gerbera, Right image: 'Lancaster' cultivar and left image: 'Sunway' Cultivar

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تیمار هورمونی و رقم بر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی (مرحله باززایی)
Table 1. Analysis of variance the effect of hormonal treatment and cultivar on mean square of evaluated traits (regeneration phase)

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد گیاهچه No. of plantlet	ارتفاع گیاهچه Plantlet height	تعداد ریشه Root number
رقم Cultivar	14	9.77**	6.34**	2.44**
تیمار هورمونی Hormonal treatment	2	463.73**	48.36**	66.90**
رقم × تیمار هورمونی Cultivar × hormonal treatment	28	5.38**	3.72**	1.90**
خطا Error	225	0.69	0.25	0.32

** نشانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.
** Indicate significance at 1%.

جدول ۲- اثر تیمار هورمونی محیط کشت و رقم بر پرآوری شاخساره ژربرا
Table 2. Effect of medium hormonal treatment and cultivar on shoot proliferation of *Gerbera*

رقم Cultivar	ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition		
	MS + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IAA	MS + 1 mg/l KIN + 0.1 mg/l IAA	MS
Aventura	4.67^{e-i}	2.00^{l-o}	1.33^{no}
Barones	5.50^{c-f}	5.33^{c-g}	1.25^{no}
Mayfair	4.60^{e-i}	3.33^{h-m}	1.50^{mno}
Cacharelle	5.33^{c-g}	2.75^{i-o}	2.00^{l-o}
Real	5.75^{a-f}	4.33^{f-j}	1.50^{mno}
Sorbet	6.67^{a-d}	3.00^{i-n}	1.33^{no}
Dalma	5.60^{b-f}	2.25^{k-o}	1.67^{l-o}
Goldy	5.50^{c-f}	4.17^{f-k}	1.00^{o}
Panama	7.00^{abc}	5.50^{c-f}	1.33^{no}
Lancaster	7.67^{a}	6.00^{a-f}	1.17^{no}
Dune	6.67^{a-d}	4.17^{f-k}	1.00^{o}
Bellavue	2.50^{j-o}	2.83^{i-o}	1.33^{no}
Blinddate	7.50^{ab}	5.00^{d-h}	1.50^{mno}
Applause	6.50^{a-e}	2.50^{j-o}	1.00^{o}
Sunway	6.67^{a-d}	3.50^{g-l}	1.17^{no}

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.
Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

پانزده رقم مختلف ژربرا عکس العمل متفاوتی نسبت به تیمار هورمونی محیط کشت از لحاظ تعداد ریشه‌های تولید شده از خود نشان دادند. بیشترین تعداد ریشه‌های تولید شده در محیط کشت MS فاقد هورمون و رقم 'Barones' (۳/۰۰) مشاهده شد و رقم‌های 'Real' و 'Blinddate' در همین تیمار هورمونی محیط کشت با میانگین ۲/۸۳ در رتبه دوم قرار گرفتند. در تمامی رقم‌ها، وجود هورمون بنزیل آدنین در ترکیب محیط کشت از ریشه‌زایی گیاهچه‌ها جلوگیری نمود و در محیط کشت حاوی کینتین، در برخی از ارقام ریشه‌زایی به میزان ناچیزی مشاهده گردید (جدول ۴).

جدول ۳- اثر ترکیب هورمونی و رقم بر طول شاخساره پرآوری شده (میلی‌متر)

Table 3. Effect of hormonal composition and cultivar on proliferated shoot length (mm)

ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition			رقم Cultivar
MS	MS + 1 mg/l KIN + 0.1 mg/l IAA	MS + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IAA	
3.00^{ijk}	3.17^{ij}	3.03^{ijk}	Aventura
3.13^{ijk}	2.92^{ijk}	2.52^{jk}	Barones
4.50^{d-g}	5.17^{a-e}	2.98^{ijk}	Mayfair
2.50^{jk}	3.25^{hij}	3.17^{ij}	Cacharelle
4.83^{b-f}	4.92^{b-f}	3.35^{g-j}	Real
4.33^{e-h}	5.50^{a-d}	3.93^{f-i}	Sorbet
3.80^{f-i}	3.50^{g-j}	3.20^{hij}	Dalma
4.50^{d-g}	4.33^{e-h}	3.88^{f-i}	Goldy
5.75^{abc}	4.75^{b-f}	2.50^{jk}	Panama
5.50^{a-d}	3.42^{g-j}	3.00^{ijk}	Lancaster
5.17^{a-e}	4.33^{e-h}	3.25^{hij}	Dune
4.67^{c-f}	3.83^{f-i}	3.50^{g-j}	Bellavue
5.83^{ab}	2.83^{ijk}	2.00^{k}	Blinddate
4.83^{b-f}	2.50^{jk}	3.08^{ijk}	Applause
6.17^{a}	4.67^{c-f}	3.20^{hij}	Sunway

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

جدول ٤- اثر تیمار هورمونی محیط کشت و رقم بر تعداد ریشه تولید شده

Table 4. Effect of medium hormonal composition and cultivar on number of produced root

ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition			رقم Cultivar
MS	MS + 1 mg/l KIN + 0.1 mg/l IAA	MS + 1 mg/l BA + 0.1 mg/l IAA	
1.83^{a-d}	0.00^{g}	0.00^{g}	Aventura
3.00^{a}	0.00^{g}	0.00^{g}	Barones
0.50^{efg}	0.00^{g}	0.00^{g}	Mayfair
0.00^{g}	0.00^{g}	0.00^{g}	Cacharelle
2.83^{a}	0.00^{g}	0.00^{g}	Real
0.17^{fg}	0.00^{g}	0.00^{g}	Sorbet
0.83^{c-g}	0.00^{g}	0.00^{g}	Dalma
0.67^{d-g}	0.00^{g}	0.00^{g}	Goldy
2.00^{abc}	0.00^{g}	0.00^{g}	Panama
2.33^{ab}	0.00^{g}	0.00^{g}	Lancaster
1.33^{b-f}	0.50^{efg}	0.00^{g}	Dune
1.33^{b-f}	0.00^{g}	0.00^{g}	Bellavue
2.83^{a}	0.67^{d-g}	0.00^{g}	Blinddate
1.50^{b-e}	0.00^{g}	0.00^{g}	Applause
2.17^{ab}	0.83^{c-g}	0.00^{g}	Sunway

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

آزمایش دوم: ریشه‌زایی گیاهچه‌های حاصل از ریزنمونه‌های نوک شاخساره

بر اساس نتایج به‌دست آمده اثر متقابل رقم و ترکیب هورمونی محیط کشت بر تعداد ریشه تولید شده در پانزده رقم ژربرا در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۵).

بررسی مقایسه میانگین داده‌های آزمایش نشان داد که بیشترین تعداد ریشه تولید شده (۸/۰۰) در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و در ارقام 'Cacharelle' و 'Blinddate' مشاهده شد و کمترین میزان این صفت (۲/۰۰) در رقم 'Dalma' و در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر 2ip مشاهده شد. در محیط کشت MS ½ فاقد هورمون، کمترین تعداد ریشه (۲/۶۰) در رقم 'Aventura' دیده شد. نتایج مندرج در جدول (۶) نشان می‌دهد که در اکثر ارقام، بیشترین تعداد ریشه تولید شده در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA حاصل شده است.

جدول ۵- تجزیه واریانس اثر تیمار هورمونی و رقم بر میانگین مربعات صفات مورد ارزیابی (مرحله ریشه‌زایی)

Table 5. Analysis of variance the effect of hormonal treatment and cultivar on mean square of evaluated traits (rooting phase)

منبع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	تعداد ریشه اصلی No. of main root	طول ریشه اصلی Root length	تعداد ریشه ثانویه No. of secondary root
رقم Cultivar	14	10.53**	28.97**	43.34**
تیمار هورمونی Hormonal Treatment	3	140.90**	4.33**	15.59**
رقم × تیمار هورمونی Cultivar × hormonal treatment	42	2.73**	6.06**	8.19**
خطا Error	240	0.99	0.42	0.74

** نشانگر معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد می‌باشد.

** Indicate significance at 1%.

جدول ٦- اثر تیمار هورمونی محیط کشت و رقم بر تعداد ریشه تولید شده (مرحله ریشه‌زایی)

Table 6. Effect of medium hormonal composition and cultivar on number of produced root (rooting phase)

رقم Cultivar	ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition			
	½ MS	½ MS + 1 mg/l IBA	½ MS + 1 mg/l IAA	½ MS + 1 mg/l 2IP
Aventura	2.60^{kl}	6.20^{a-g}	3.20^{i-l}	3.40^{h-l}
Barones	4.00^{f-l}	7.40^{abc}	5.00^{b-k}	3.40^{h-l}
Mayfair	5.00^{b-k}	7.20^{a-d}	5.00^{b-k}	2.80^{jkl}
Cacharelle	3.80^{g-l}	8.00^{a}	6.50^{a-f}	3.80^{g-l}
Real	5.20^{b-k}	7.00^{a-e}	5.20^{b-k}	3.00^{i-l}
Sorbet	4.30^{f-l}	7.00^{a-e}	4.50^{e-l}	4.00^{f-l}
Dalma	3.00^{i-l}	5.00^{b-k}	3.00^{i-l}	2.00^{l}
Goldy	5.00^{b-k}	7.00^{a-e}	6.50^{a-f}	5.00^{b-k}
Panama	3.50^{h-l}	7.00^{a-e}	6.00^{a-h}	6.00^{a-h}
Lancaster	4.00^{f-l}	5.00^{b-k}	5.00^{b-k}	3.50^{h-l}
Dune	3.50^{h-l}	5.20^{b-k}	4.80^{c-k}	3.20^{i-l}
Bellavue	3.00^{i-l}	7.00^{a-e}	4.30^{f-l}	3.40^{h-l}
Blinddate	4.60^{d-l}	8.00^{a}	5.60^{a-i}	3.80^{g-l}
Applause	4.20^{f-l}	4.80^{c-k}	5.00^{b-k}	3.00^{i-l}
Sunway	4.00^{f-l}	7.60^{ab}	5.40^{a-j}	2.80^{jkl}

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

ارقام مختلف ژربرا عکس‌العمل متفاوتی را از لحاظ طول ریشه تولید شده، نسبت به ترکیب هورمونی محیط کشت از خود نشان دادند. طویل‌ترین ریشه‌های تولید شده در رقم Real و در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA (۱۲/۰۰ سانتی‌متر) و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA (۸/۰۰ سانتی‌متر) حاصل شد. از سوی دیگر، در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA در ارقام 'Dalma' و 'Bellavue' به‌ترتیب با میانگین‌های ۲/۰۰ و ۲/۲۰ سانتی‌متر، کوتاه‌ترین ریشه‌ها حاصل شد (جدول ۷).

در ارزیابی اثر ترکیب هورمونی محیط کشت و رقم بر تعداد ریشه ثانویه تولید شده، بین رقم‌های مختلف تفاوت معنی‌دار بود. در رقم 'Blinddate' در محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA و ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA بیشترین تعداد ریشه ثانویه با میانگین ۱۰/۰ عدد مشاهده شد. همچنین در محیط کشت MS ½ فاقد هورمون، رقم 'Barones' با تولید ۹/۰۰ عدد ریشه ثانویه در رتبه دوم قرار گرفت. کمترین تعداد ریشه ثانویه در رقم 'Applause' و در محیط‌های کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA (۰/۴) و ۱ میلی‌گرم در لیتر 2ip (۱/۶۰) حاصل شد (جدول ۸).

جدول ۷- اثر ترکیب هورمونی محیط کشت و رقم بر طول ریشه

Table 7. Effect of medium hormonal composition and cultivar on root length

ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition				رقم Cultivar
½ MS + 1 mg/l 2IP	½ MS + 1 mg/l IAA	½ MS + 1 mg/l IBA	½ MS	
4.70^{e-j}	5.60^{c-f}	4.40^{e-l}	5.40^{c-g}	Aventura
5.40^{c-g}	5.00^{d-h}	4.70^{e-j}	5.10^{d-h}	Barones
4.20^{f-l}	4.80^{d-i}	4.80^{d-i}	4.50^{e-k}	Mayfair
3.80^{g-m}	6.50^{bcd}	4.50^{e-k}	5.50^{c-g}	Cacharelle
5.20^{d-h}	8.00^{b}	12.00^{a}	6.50^{bcd}	Real
4.10^{f-l}	4.10^{f-l}	4.00^{f-l}	4.30^{e-l}	Sorbet
3.00^{j-n}	5.00^{d-h}	2.00^{n}	4.00^{f-l}	Dalma
4.50^{e-k}	6.00^{cde}	4.50^{e-k}	4.50^{e-k}	Goldy
7.00^{bc}	7.00^{bc}	7.00^{bc}	4.00^{f-l}	Panama
3.00^{j-n}	4.00^{f-l}	4.00^{f-l}	4.00^{f-l}	Lancaster
4.20^{f-l}	4.20^{f-l}	4.00^{f-l}	4.50^{e-k}	Dune
4.50^{e-k}	2.80^{k-n}	2.20^{mn}	3.50^{h-n}	Bellavue
5.50^{c-g}	4.50^{e-k}	3.80^{g-m}	5.40^{c-g}	Blinddate
4.00^{f-l}	3.20^{i-n}	2.75^{lmn}	4.50^{e-k}	Applause
3.00^{j-n}	4.00^{f-l}	4.00^{f-l}	4.00^{f-l}	Sunway

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

شکل ۲- اثر ترکیب هورمونی محیط کشت بر ریشه تولید شده در مرحله ریشه‌زایی ژربرا، به ترتیب از سمت راست به چپ: محیط کشت MS ½ فاقد هورمون، MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر IBA، IAA و 2IP

Figure 2. Effect of medium hormonal composition on rooting of gerbera, in order from right to left: ½ MS hormone-free medium, ½ MS medium containing 1 mg/l IBA, IAA or 2IP

جدول ۸- اثر ترکیب هورمونی محیط کشت و رقم بر تعداد ریشه ثانویه تولید شده

Table 8. Effect of medium hormonal composition and cultivar on number of secondary root

ترکیب هورمونی محیط کشت Medium Hormonal Composition				رقم Cultivar
½ MS + 1 mg/l 2IP	½ MS + 1 mg/l IAA	½ MS + 1 mg/l IBA	½ MS	
4.20^{h-n}	7.00^{b-e}	2.40^{nop}	6.40^{d-h}	Aventura
8.80^{abc}	6.80^{b-f}	2.50^{m-p}	9.00^{ab}	Barones
4.10^{i-n}	5.00^{d-k}	2.90^{k-o}	6.60^{c-g}	Mayfair
4.00^{i-n}	5.50^{d-j}	4.70^{f-m}	4.80^{e-l}	Cacharelle
3.80^{i-o}	4.80^{e-l}	5.60^{d-j}	3.80^{i-o}	Real
4.50^{g-n}	4.50^{g-n}	4.50^{g-n}	4.50^{g-n}	Sorbet
4.50^{g-n}	5.00^{d-k}	4.00^{i-n}	4.50^{g-n}	Dalma
4.00^{i-n}	5.50^{d-j}	5.50^{d-j}	4.00^{i-n}	Goldy
6.50^{d-g}	6.50^{d-g}	6.50^{d-g}	5.00^{d-k}	Panama
5.00^{d-k}	5.50^{d-j}	5.50^{d-j}	5.50^{d-j}	Lancaster
3.00^{k-o}	3.00^{k-o}	4.00^{i-n}	5.00^{d-k}	Dune
3.40^{j-o}	3.00^{k-o}	3.00^{k-o}	3.40^{j-o}	Bellavue
6.00^{d-i}	10.00^{a}	10.00^{a}	7.20^{bcd}	Blinddate
1.60^{op}	2.60^{l-p}	0.40^{p}	4.00^{i-n}	Applause
6.00^{d-i}	6.00^{d-i}	6.00^{d-i}	6.00^{d-i}	Sunway

میانگین‌های دارای حروف مشابه بر اساس آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

Means with the same letter are not significantly different based on Tukey test ($p<0.05$).

کشت درون‌شیشه‌ای در گیاهان مختلف از جمله گیاهان زینتی کاربردهای مختلفی دارد. در موفقیت این تکنیک، فاکتورهای متعددی از جمله نوع مواد گیاهی، رقم، ترکیبات محیط کشت پایه، غلظت و نوع تنظیم‌کننده‌های رشد مؤثر می‌باشند (Van Eck and Kitto, 1992). در کشت بافت گیاهی، نقش سیتوکنین‌ها در تحریک نمو جوانه جانبی از طریق کاهش غالبیت انتهایی بسیار با اهمیت است. سیتوکنین‌ها باعث تورم بافت‌ها، تحریک نمو جوانه‌های نابجا و تحریک تقسیم سلولی می‌شوند (Tyagi and Kothari, 2004). از میان آن‌ها، BA فعال‌ترین و ارزان‌ترین بوده، و بیشترین کاربرد را دارد. به خصوص در کارهای ریزازدیادی تجاری که هزینه و سادگی کار مورد توجه است (Bagheri *et al.*, 2004). در رابطه با گیاه ژربرا نیز انواع مختلفی از سیتوکنین‌ها به منظور باززایی شاخساره مورد استفاده قرار گرفته است. اما بهترین نتیجه به بنزیل آدنین مربوط می‌گردد. ساختار پایدارتر ریبوزید و نوکلئوتید در BA نسبت به سایر سیتوکنین‌ها یکی از دلائل پاسخ عملکردی مناسب‌تر آن می‌باشد (Fatima *et al.*, 2015؛ Fatima and Anis, 2012).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که افزودن BA به محیط کشت موجب افزایش پرآوری شاخساره‌ها در مقایسه با محیط فاقد هورمون گردید. در محیط فاقد هورمون سیتوکنین، باززایی به‌خوبی صورت نگرفته و این نشان‌دهنده نقش مشخص سیتوکنین‌ها در قابلیت تحریک، تکثیر و تقسیم سلولی در بافت‌های ریزنمونه مورد کشت و در نتیجه تشکیل اندام (اندام‌زایی) در بافت‌های تیمار شده می‌باشد. در این آزمایش غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر BA موجب پرآوری قابل قبولی در ریزنمونه‌های گیاه ژربرا گردید. با این حال با بررسی تحقیقات انجام شده مشخص گردید که برای پرآوری مناسب، برخی از محققین غلظت‌های بالاتری از سیتوکنین‌ها را برای افزایش تعداد شاخساره پیشنهاد داده‌اند. ولی در پرآوری ژربرا کاربرد سیتوکنین بیشتر از سطوح بحرانی از تشکیل شاخساره سالم جلوگیری می‌کند (Debasis and Subodh, 2008).

علاوه بر این، اثرات هم افزایی کاربرد سیتوکنین و اکسین در پرآوری و رشد شاخساره‌ها در گیاهان متعددی گزارش شده است. تعامل بین اکسین و

سیتوکنین نقش تنظیم‌کنندگی مشخصی در رشد و نمو گیاه همچون غالبیت انتهایی، تشکیل و حفظ مریستم دارد. نتایج پژوهش‌ها نشان می‌دهد که سیتوکنین‌ها سطوح اکسین و از سوی دیگر اکسین‌ها نیز سطوح سیتوکنین‌ها را تنظیم می‌کنند (Fatima *et al.*, 2015). کاربرد غلظت‌های پایین اکسین همراه با غلظت‌های بالای سیتوکنین جهت القاء باززایی و پرآوری شاخساره توصیه می‌گردد. همان‌طور که بیان گردید، غلظت‌های بالاتر از حد مطلوب سیتوکنین باعث کاهش طول شاخساره باززایی شده می‌گردند. بنابراین یکی از اثرات مطلوب افزودن اکسین با غلظت پایین به محیط کشت، تعدیل نمودن اثرات نامطلوب غلظت‌های بالای سیتوکنین بر ارتفاع شاخساره‌های جانبی می‌باشد (Fatima and Anis, 2012). تولید جوانه‌های جانبی در حضور سیتوکنین نشان دهنده فائق آمدن سیتوکنین بر غالبیت انتهایی است که منجر به از بین رفتن رکود در جوانه‌های جانبی می‌گردد و تشکیل شاخساره را در گیاه افزایش می‌دهد (Fatima *et al.*, 2015).

از ریزنمونه‌های مختلفی جهت تکثیر ژربرا استفاده شده است (Cardoso and da Silva, 2013). در بین ریزنمونه‌های مختلف، استفاده از ریزنمونه نوک شاخساره، سریع‌ترین و قابل اعتمادترین روش جهت به‌دست آوردن گیاهان یکسان بدون ایجاد تنوع سوماکلونال می‌باشد از سوی دیگر روش کشت نوک شاخساره نسبت به سایر روش‌ها جهت تکثیر ژربرا مشکل‌تر می‌باشد. با این حال محققان متعددی از روش کشت نوک شاخساره جهت تکثیر ژربرا استفاده نموده‌اند و نتایج به‌نسبت مطلوبی را گزارش کردند. Huang and Chu (1985) از محیط کشت MS ½ حاوی ۲ درصد ساکارز به همراه ۵ میلی گرم در لیتر BA، ۰/۱ میلی گرم در لیتر IAA جهت کشت نوک شاخساره ژربرا استفاده نمودند. این درحالی است که Cardoso and da Silva (2013) از محیط کشت MS حاوی ۳ درصد ساکارز استفاده نمودند و غلظت BA مورد استفاده را تا ۰/۵ میلی گرم در لیتر کاهش دادند و NAA با غلظت ۰/۰۱ میلی گرم در لیتر را جایگزین IAA نمودند. Murashige *et al.* (1974) نیز نتایج مشابهی را گزارش نمودند. Pierik *et al.* (1979) گزارش نمودند که جهت تکثیر ژربرا ریزنمونه نوک شاخساره نسبت به ریزنمونه کاپیتول انتخاب مناسب‌تری می باشد. Murashige *et al.* (1974) مزایا و معایب هر دو روش را بیان نمودند و گزارش کردند که سرعت تکثیر ریزنمونه نوک شاخساره نسبت به ریزنمونه کاپیتول بیشتر می باشد ولی جهت القاء و استقرار به تعداد زیادی ریزنمونه نیاز می‌باشد. با توجه به این‌که ریزنمونه نوک شاخساره در حالت مریستمی قرار دارد و نیاز به القاء شاخه‌زایی ندارد، در نتیجه سرعت تکثیر این نوع ریزنمونه نسبت به سایر ریزنمونه‌ها بیشتر می‌باشد.

از دیگر فاکتورهای مؤثر بر رشد و نمو در کشت درون شیشه‌ای، تأثیر مواد گیاهی به‌ویژه رقم می‌باشد (Alizadeh and Hosseini, 2013). ارقام مختلف با داشتن سطوح مختلف هورمون‌های داخلی اکسین و سیتوکنین، پاسخ‌های متفاوتی نسبت به شرایط محیط کشت نشان می‌دهند و عکس‌العمل ریزنمونه‌های مختلف بسته به نوع، مقدار و روابط هورمونی داخل اندام مورد کشت متفاوت می‌باشد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت پاسخ گیاهان مختلف، ارقام مختلف گیاهان و نوع ریزنمونه 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 برایند عوامل تأثیرگذار ذکر شده باعث عکس‌العمل خاص گیاه جهت رشد و نمو بهینه می‌شود و نسبت بهینه تنظیم‌کننده‌های رشد برای باززایی شاخساره بستگی زیادی به رقم دارد و با توجه به واکنش ویژه هر جنس، گونه و رقم خاص به عوامل مختلف محیط کشت، لازم است شرایط برای همان گیاه بهینه شود (Khanna and Raina, 1998؛ Pattnaik and Chand, 1996؛ Sharzad and Siddiqui, 2000؛ Singh and Sehgal, 1999؛

(Zarei *et al.*, 2013). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رقم و ترکیب هورمونی محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر میزان پرآوری ریزنمونه‌های نوک شاخساره ژربرا داشت. در کلیه ارقام، ترکیب هورمونی محیط کشت حاوی بنزیل آدنین منجر به تولید بیشترین تعداد شاخساره گردید. با این حال در ریزنمونه‌های تولید شده در محیط کشت حاوی BA هیچ‌گونه علائم ریشه‌زایی مشاهده نشد. با توجه به این‌که در مرحله پرآوری حداکثر میزان تولید گیاهچه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است، بنابراین کاربرد محیط کشت حاوی BA در این مرحله توصیه می‌گردد و در مرحله بعد، جهت ریشه‌زایی گیاهچه‌های تکثیر شده، کاربرد محیط کشت‌های مناسب ریشه‌زایی پیشنهاد می‌گردد.

در طی مراحل ریزازدیادی، ریشه‌زایی شاخساره‌های تولید شده از اهمیت قابل توجهی برخوردار است و عدم ریشه‌زایی مناسب، سازگاری گیاهچه‌های تولید شده را به شدت تحت تأثیر قرار می‌دهد. از آن‌جائی‌که برخی از ارقام ریشه‌زایی مطلوبی را از خود نشان نمی‌دهند، بنابراین تشکیل ریشه‌های نابجا در شرایط کشت بافت یکی از موضوعات اساسی طی مراحل ریزازدیادی می‌باشد. ریشه‌زایی به‌عنوان یک مرحله مجزا در نظر گرفته می‌شود که در این مرحله اکسین‌ها نقش اساسی را ایفا می‌کنند (Fatima and Anis, 2012). Soczek and Hempel (1986) در مرحله ریشه‌زایی اثر سطوح مختلف IAA و NAA را مورد بررسی قرار دادند و گزارش کردند که IAA از نظر تعداد و طول ریشه، ریشه‌های بیشتر و بلندتری نسبت به NAA تولید می‌کند. با این حال، گرچه هورمون‌ها تأثیرات متفاوتی بر روی ریشه‌زایی دارا می‌باشند ولی در بسیاری از موارد شاخه‌های باززایی شده در محیط کشت پایه MS ½ بدون هورمون، ریشه‌زایی مطلوبی را از خود نشان دادند (Olivera *et al.*, 2000). Ghayur Karimiyani *et al.* (2010) برای ریشه‌دار کردن شاخه‌های گیاهچه‌های ژربرا از محیط کشت MS بدون هورمون استفاده کردند. Olivera *et al.* (2000) نیز ریشه‌زایی در محیط کشت MS بدون هورمون را گزارش کردند. نتایج پژوهش حاضر نیز نشان داد که بهترین عکس‌العمل گیاهچه‌ها از نظر ریشه‌زایی در محیط کشت‌های MS ½ فاقد هورمون و محیط کشت MS ½ حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر هورمون IBA و یا IAA مشاهده گردید که با نتایج سایر پژوهشگران مطابق می‌باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که رقم و ترکیب هورمونی محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر میزان پرآوری ریزنمونه‌های نوک شاخساره ژربرا داشت. در کلیه ارقام، ترکیب هورمونی محیط کشت حاوی بنزیل آدنین منجر به تولید بیشترین تعداد شاخساره گردید. همچنین در پژوهش حاضر، ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژربرا تحت تأثیر رقم قرار گرفت و ترکیب هورمونی مناسب جهت ریشه‌زایی پانزده رقم ژربرا متفاوت بود. با این حال نکته قابل توجه در مرحله ریشه‌زایی، قابلیت سازگاری مناسب گیاهچه‌های تکثیر شده می‌باشد. در محیط کشت MS ½ تعداد و طول ریشه‌های تولیدی در حد متوسط سایر تیمارها قرار دارد ولی با این وجود، گیاهچه‌های تولید شده در این محیط کشت قابلیت سازگاری مطلوبی داشتند و علاوه بر این، هزینه مازاد جهت مصرف هورمون‌های ریشه‌زایی مصرف نگردید و هزینه تولید تجاری کاهش یافت. در مجموع نتایج این آزمایش نشان داد که گیاه ژربرا دارای پتانسیل ریشه‌زایی بالایی بوده، به‌طوری‌که در محیط کشت بدون هورمون اکسین نیز به‌راحتی ریشه تولید می‌نماید. احتمالاً گیاه ژربرا با برخورداری از اکسین درونی بالا براحتی قادر به تولید ریشه در محیط کشت مغذی می‌باشد. بنابراین جهت تکثیر تجاری، به منظور کاهش هزینه‌های تولیدی، کاربرد محیط کشت MS ½ جهت ریشه‌زایی ارقام ژربرا توصیه می‌گردد. همچنین به منظور سازگاری گیاهچه‌های تولید شده، کاربرد بستر کشت حاوی کوکوپیت و پرلیت پیشنهاد می‌گردد.

References

Alizadeh, M. and Hosseini, B. (2013). Effect of population and BAP hormonal treatment on *in vitro* regeneration of *Hyssopus officinalis* L. Horticultural Science, 27(2), 201-207.

Bagheri, A. R. Ziarat Nia S. M. and Hosseini, M. (2004). *Tree tissue culture,* (1th ed.). Mashhad: Ferdowsi University of Mashhad Press. [In Farsi]

Cardoso, J. C. and da Silva. J. A. T. (2013). Gerbera micropropagation. Biotechnology Advances, 31(8), 1344-1357.

Debasis, C. and Subodh, K. D. (2008). Micropropagation of gerbera: lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities during acclimatization process. Acta Physiologiae Plantarum, 30(3), 325-331.

Fatima, N., Ahmad, N., Ahmad, I. and Anis, M. (2015). Interactive effects of growth regulators, carbon sources, ph on plant regeneration and assessment of genetic fidelity using single primer amplification reaction (SPARS) techniques in Withania somnifera L. Appl Biochem Biotechnol, 177(1), 118-136.

Fatima, N. and Anis, M. (2012). Role of growth regulators on *in vitro* regeneration and histological analysis in Indian ginseng (*Withania somnifera* L.). Physiology and Molecular Biology of Plants, 18(1), 59-67.

Gerado, M. (2002). Gerbera cultivation in greenhouse. Schreurs BVDC Kwakel the Netherland.

Ghayur Karimiyani, Z., Bagheri, A., Jafarkhani Kermani, M. and Davari Nezhad., Gh. (2010). The effect of different concentrations of kinetin and thidiazuron on regeneration and proliferation of gerbera. Horticultural Science, 24(2), 170-174.

Huang, M. C. and Chu, C. Y. (1985). A scheme for commercial multiplication of Gerbera (*Gerbera hybrida* Hort.) through shoo tip culture. Journal of Japanese Society for Horticultural Science, 54(1), 94-100.

Hubner, S. (2014). International statistics flowers and plants (Volume 62). Germany: Centre for Business Management in Horticulture and applied research, Leibniz University Hanover.

Kanwar, J. K. and Kumar, S. (2008). *In vitro* propagation of Gerbera-A Review. Horticultural Science (Prague), 35(1), 35-44.

Khanna H. K. and Raina S. K. (1998). Genotype x culture media interaction effects on regeneration response of three indica rice cultivars. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 52(3), 145-153.

Murashige, T., Serpa, M. and Jones, J. B. (1974). Clonal multiplication of Gerbera through tissue culture. Hortscience, 9, 175-180.

Olivera, O. V. Z., Gutierrez, E. M. A. and Andrade, R. M. (2000). *In vitro* culture of gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus) and its acclimatization in greenhouse. Bioagro, 12, 75-80.

Pattnaik S. and Chand P.K. (1996). *In vitro* propagation of the medicinal herbs *Ocimum americanum* L. syn. O. canum Sims. (*Hoary basil*) and *Ocimum sanctum* L. (holy basil). Plant Cell Reproduction, 15(11), 846-850.

Pierik, R. L. M., Steegmans, H. H. M., Verhaegh, J. A. M. and Wouters, A. N. (1979). New developments in the vegetative propagation of gerberas in test-tubes. Vakbl voor de Bloemisterij, 34(25), 36-37.

Reynoird, J. P., Chriqui, D., Noin, M., Brown, S. and Marie, D. (1993). Plant propagation from *in vitro* leaf culture of several gerbera species. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 33(2), 203-210.

Sharzad, A. and Siddiqui, S. A. (2000). *In vitro* organogenesis in *Ocimum sanctum* L. A multipurpose herb. Phytomorphology, 50(1), 27-35.

Singh. N. K. and Sehgal, C. B. (1999). Micropropagation of 'Holy Basil' (*Ocimum sanctum* Linn.) from young inflorescences of mature plants. Plant Growth Regulation, 29(3), 161-166.

Soczek, U. and Hempel, M. (1986). Some aspects influencing the efficiency of Gerbera micropagation. Sadowni Ctwa Rosliny Oadobne, 1(5), 117-124.

Tyagi, P. and Kothari, S.L. (2004). Rapid *in vitro* regeneration of Gerbera jamesonii (H. Bolus ex Hook f.) from different explants. Indian Journal of Biotechnology, 3(4), 584-586.

Van Eck, J. M. and Kitto S. L. (1992). Regeneration of peppermint and orange mint from leaf disks. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 30(1), 41-49.

Zarei, M., Garossi, G. H., Nezami, A., Hosseini, R. and Ahmadi, J. (2013). The effect of liquid medium, carbon source and light spectrum on shoot formation and the way of auxin treatment on rooting of Gisela 6 rootstock. Journal of Cell and Tissue, 4(2), 169-185.

Effect of Hormonal Compositions on Micropropagation of Fifteen Cultivars of Gerbera (*Gerbera Jamesonii* Bolus ex Hooker f.)

M. Kharrazi[1], A. Sharifi[2]*, F. Keykha Akhar[3], A. Bagheri[4] and Y. M. Moradian[5]

1- Research Assistant, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research: ACECR, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Iran
2- ***Corresponding Author:** Research Assistant, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research: ACECR, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Iran (ahmadsharifi66@yahoo.com)
3- Assistant Professor, Department of Biotechnology, Faculty of Agriculture, Jahrom University, Jahrom, Iran
4- Professor, Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
5- M.Sc. Graduate of Biotechnology and Plant Breeding, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Academic Center for Education, Culture and Research: ACECR, Razavi Khorasan Province, Mashhad, Iran

Received: 1 October, 2016 Accepted: 17 May, 2017

Abstract

Background and Objectives

Gerbera is one of the most important ornamental plants that is used as cut flower and potted plant. The common method of propagation does not have performance for supplying the global demand of this ornamental plant. So the most common method for commercial propagation of gerbera is micropropagation.

Materials and Methods

This research was conducted during 2015-2016 in Laboratory of Ornamental Plants Biotechnology of Jahad Daneshghahi. In this study, the effect of different hormonal treatments and cultivars on micropropagation and rooting of gerbera shoot tip explant was evaluated. Shoot tip explants were first washed with running tap water for 30 min. Then their surface was sterilized by dipping in 1.5% sodium hypochlorite solution for 5 min and rinsed with sterile distilled water, followed by immersing in 0.1 % mercuric chloride solution for 5 min. After sterilization with mercuric chloride solution, capitulum was washed with sterile distilled water. Subsequently washing was done with sterile distilled water three times. Sterilization with sodium hypochlorite solution and mercuric chloride and final rinse with sterile distilled water were done under laminar air flow hood. In the proliferation phase, MS medium containing 1 mg/l BA or KIN in combination with 0.1 mg/l IAA or hormone-free medium, 3% sucrose, 8 g/l agar was used. For rooting of propagated plantlets, ½ MS medium containing 1 mg/l IBA, IAA, 2IP or ½ MS hormone-free medium, 3% sucrose, 8 g/l agar was used. After 4 weeks different parameters such as number of plantlet, height of plantlet, number of main root, root length, number of secondary root were measured. Cultivars used in this experiment are as follows: 1: ‘Aventura’, 2: ‘Barones’, 3: ‘Mayfair’, 4: ‘Cacharelle’, 5: ‘Real’, 6: ‘Sorbet’, 7: ‘Dalma’, 8: ‘Goldy’, 9: ‘Panama’, 10: ‘Lancaster’, 11: ‘Dune’, 12: ‘Bellavue’, 13: ‘Blinddate’, 14: ‘Applause’, 15: ‘Sunway’.

Results

The results showed that in all studied cultivars, the medium containing BA leads to producing the highest number of plantlet. So using the medium containing BA in propagation phase is recommended for obtaining the highest number of plantlet. Also the results showed that the rooting of gerbera plantlets was affected by cultivar and suitable hormonal composition for rooting of each cultivar was different. However, the appropriate acclimation of produced plantlets is very important.

Discussion

Although the length and number of roots in ½ MS medium were at the average of other treatments, propagated plantlets from this medium had a suitable acclimation capacity. Moreover, additional cost for utilization of rooting hormones was reduced and therefore commercial production cost decreased. Thus, application of this medium for rooting of different gerbera cultivars is recommended. Finally, acclimation of rooted plantlet was done in cocopeat and perlite medium, with 95% success.

Keywords: Benzyl adenine, Medium, Micropropagation, Rooting, Shoot tip