Plant Prod., 2022, 45(2), 277-286
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/PPD.2022.36928.1973
Received: 5 June 2021
Accepted: 18 April 2022

Plant Productions
Research Article

Micropropagation of *Polianthes tuberosa* L. Through Direct Organogenesis

Mohammad Hosein Daneshvar[1]*, Mehri Havil[2], Amin Lotfi Jalal Abadi[3]

1- Professor, Department of Horticultural Sciences, Agriculture and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Iran
2- M.Sc. Graduate of Agronomy, Department of Sciences and Horticultural Engineering, College of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Molasani, Iran
3- Assistant Professor, Department of Production Engineering and Plant Genetics,Faculty of Agriculture, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzesta, Molasani, Iran

Citation: Daneshvar, M. H., Havil, M. & Lotfi Jalal Abadi, A. (2022). Micropropagation of *Polianthes tuberosa L.* through direct organogenesis. *Plant Productions,* 45(2), 277-286.

Abstract

Introduction

Polianthes tuberosa L. is one of the most important ornamental bulbous plants in tropical and subtropical regions that is cultivating in some regions of Iran. Due to the transmission of fungal and bacterial diseases, propagation by bulbs is not affordable. Tissue culture is a good way to produce uniform and disease-free seedling. Therefore, *in vitro* cultivation of tuberose is a suitable solution to commercial reproduction.

Materials and Methods

To investigate the best method of micropropagation of *Polianthes tuberosa*, this study was conducted in three experiments (proliferation, root formation and adaptation). The explants used in this study were lateral buds. Ethyl alcohol (70%) and dilute laundry bleach (5.25% active chlorine), benomyl fungicide and dishwashing liquid were used to eliminate surface contamination of the explants. In the first experiment, the effect of different plant growth regulators and MS medium (MS, ½ MS, ¼ MS) on shoot formation of lateral bud was investigated. Lateral bud explants were cultured in MS medium with various plant growth regulators including KIN (0.25, 0.5, 0.1, 0.2 and 0.4 mg / L), BAP (0.25 (0.5, 0.1 and 2.0 mg / l) and then the length and number of shoots were evaluated. After forming shoots in the

* **Corresponding Author:** Mohammad Hosein Daneshvar
E-mail: mhdaneshvar2004@yahoo.com

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

propagation medium, they were transferred to a new environment to form roots.The root formation experiment included tree levels of NAA concentrations, (0.5, 0.75 and 1 mg/L) in combination with 0.2 mg/L IBA and control (without growth regulator). Adaptation experiment with 5 Substrate of bed including Peat Moss, Cocopeat, Sand, Peat Moss with Cocopeat (1: 1) and Sand with Cocopeat and Peat Moss (1: 1: 1) was conducted.

Results and Discussion

The results showed that there was a significant difference between various types of plant growth regulators (PGR) and MS culture media at different concentrations and no branch was produced without the use of PGR. In shoot prolifferation experiment, the maximum number of shoots (4.8) was obtained from lateral bud explants in MS medium with 0.25 mg / l BAP in combination with 0.25 mg / l KIN. The highest length of lateral shoot shoots (3.75 cm) was observed in MS medium with 0.25 mg / l KIN in combination with 0.25 mg / l BAP.The results of root formation experiment showed that the highest number of roots was observed in MS medium containing 0.5 mg / l NAA and 0.2 mg / l IBA and the lowest number of roots in control (without plant growth regulator). Treatment of 0.5 mg / l NAA with 0.2 mg / l IBA had the highest root length (1.22 cm). The lowest root length was also observed in the control (without plant growth regulator). In the adaptation test, no significant difference was observed between treatments in survival rate.

Conclusion

The results of this study showed that the shoot organogenesis is controlled by the cytokinin with MS medium in different concentrations. It should be mentioned that cytokinin had an important role in the synthesis of RNA, stimulation of the production of protein and the activity of some enzymes. Also, the results showed that the use of cytokinin alone has a beneficial effect on shoot organogenesis.

Keywords: Acclimatization, Direct organogenesis, Micropropagation, MS medium, *Polianthes tuberosa* L., Root formation

تولیدات گیاهی، ۱۴۰۱، ۴۵(۲)، ۲۸۶-۲۷۷
https://plantproduction.scu.ac.ir/
ISSN (P): 2588-543X; **ISSN (E):** 2588-5979
Doi: 10.22055/PPD.2022.36928.1973
تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۱۵
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۱/۲۹

تولیدات گیاهی

مقاله پژوهشی

ریزافزایی گل‌مریم (*Polianthes tuberosa* L.) از طریق اندام‌زایی مستقیم

محمدحسین دانشور[۱]*، مهری حاویل[۲]، امین لطفی جلال آبادی[۳]

۱- استاد، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی و اصلاح گل وگیاه زینتی، گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران
۳- استادیار، گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

چکیده

گل‌مریم (Tuberose) یکی از گل‌های بریدنی سوخ‌دار است که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری کشت می‌شود. ریزافزایی گل‌مریم با استفاده از کشت بافت به‌عنوان یک راهکار برای تولید گیاهچه‌های یکنواخت و عاری از بیماری مطرح است. در این پژوهش اثر غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS و تنظیم‌کننده‌های رشد KIN و BAP بر مراحل پرآوری و ریشه‌زایی و اثر پنج بستر کشت بر سازگاری گیاهچه‌های تولید شده در سه مرحله آزمایش مورد مطالعه قرار گرفت. این پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان واقع در شهرستان باوی در سال ۱۳۹۷ انجام شد. پارامترهای تعداد و طول شاخساره، تعداد و طول ریشه و درصد زنده‌مانی گیاهچه‌های گل‌مریم مورد ارزیابی قرار گرفت. در آزمایش اول، بیشترین تعداد و طول شاخساره‌ها در محیط‌کشت MS تمام قدرت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP حاصل شد اما در محیط‌کشت MS تمام قدرت و MS یک‌چهارم قدرت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر KIN و غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS (تمام قدرت، نیم قدرت و یک‌چهارم قدرت) بدون تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی شاخساره‌ای تشکیل نشد. در آزمایش ریشه‌زایی، بیشترین تعداد و طول ریشه در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA مشاهده گردید. در آزمایش سازگاری، درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها در بسترهای کشت مورد مطالعه، تفاوت معنی‌داری نشان ندادند و گیاهچه‌ها توانستند مراحل سازگاری در گلخانه را با موفقیت سپری کنند.

کلیدواژه‌ها: اندام‌زایی مستقیم، ریزافزایی، ریشه‌زایی، سازگاری، گل‌مریم، محیط‌کشت MS

* **نویسنده مسئول:** محمدحسین دانشور
رایانامه: mhdaneshvar2004@yahoo.com

© 2022 The Author(s). Published by Shahid Chamran University of Ahvaz. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

مقدمه

گل‌مریم (*Polianthes tuberosa* L.) متعلق به تیره Agavaceae و بومی مکزیک است (Barba-Gonzalez, 2012). از نظر زینتی-تجاری یکی از گل‌های بریدنی مهم در سراسر جهان است که در بسیاری از مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری کشت می‌شود (De Hertogh and Le Nard, 1993). اهمیت تجاری آن به دلیل پتانسیل بالای گل‌ها در صنعت گل بریده، جذابیت، ماندگاری و عطر گل‌ها است (Mane et al., 2006). گلچه‌های زیبا و خوش‌عطر آن در سطح وسیعی به‌عنوان منبع اسانس در صنایع عطرسازی مورد استفاده قرار می‌گیرد. گیاه به‌صورت تجاری از طریق سوخ تکثیر و کشت می‌شود (Hodges, 2010; Sheela, 2008). عملکرد گیاهان بستگی به اندازه سوخ‌های کشت شده و شرایط محیط دارد (Blundell and Steenstra, 1985; Sadhu and Das, 1978). بعد از کشت در بهار، در طی تابستان و اوایل پاییز گل می‌دهد. حدود ۳۰-۲۰ گلچه در هر گل‌آذین وجود دارد و طول هر گل‌آذین بین ۱۴ تا ۲۸ سانتی‌متر متغیر است که بستگی به اندازه سوخ دارد (Benschop et al., 1993). روش سنتی تکثیر گیاهان سوخوار از طریق اندام زیرزمینی کارایی پایینی دارند (Rahimi & Daneshvar, 2016). چالش‌های اصلی مواجهه با تولید و بازاریابی برای گل‌های بریده مریم با کیفیت خوب، بستگی به وضعیت آلودگی سوخ‌ها به قارچ‌های خاک در زمان تکثیر دارند.

در کشت بافت، برای تکثیر انبوه گل‌مریم وجود تنظیم‌کننده‌های رشد الزامی است. در این صورت اثر سیتوکینین بسیار مهم و قابل توجه است و اغلب همراه با اکسین برای تحریک تقسیم سلولی و کنترل شکل‌زایی استفاده می‌شود. اضافه کردن سیتوکینین به محیط‌کشت بر غالبیت انتهایی غلبه کرده و باعث رها شدن جوانه‌های جانبی از رکود می‌شوند (George et al., 2007).

در مطالعات مختلف Bose et al. (1987)، Nazneen et al. (2003) و Rajasekaran et al. (2000) گزارش کردند که سیتوکینین در پرآوری شاخساره گونه گل‌مریم موردنیاز است. Chithra et al. (2005) پیشنهاد کردند که محیط‌کشت MS همراه با غلظت‌های مختلف BAP یا KIN (Kinetin) برای استقرار درون شیشه‌ای کشت‌ها مفید است.

Hernandez-Mendoza et al. (2015) در پژوهشی گزارش نمودند که ریزنمونه جوانه جانبی سوخ گل‌مریم در محیط‌کشت پایه MS همراه با ۴/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر NAA بهترین نتیجه را در پرآوری شاخساره نشان دادند.

Panigrahi and Saiyad (2013) در پژوهشی روی تکثیر درون شیشه‌ای گل‌مریم گزارش دادند که در بین انواع هورمون‌های استفاده شده برای تشکیل شاخساره، محیط‌کشت MS حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر BAP و ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر KIN با میانگین ۰/۲ ± ۳/۵ بهترین پاسخ را نشان داد. شاخه‌های باززایی‌شده در محیط‌کشت MS نیم قدرت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP ریشه‌دار شدند.

در پژوهش حاضر، به منظور تولید شاخساره به‌صورت مستقیم از ریزنمونه جوانه جانبی، از غلظت‌ها و ترکیب‌های متفاوت تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، در غلظت‌های مختلف محیط‌کشت استفاده شد. پس از تشکیل شاخساره در محیط‌های کشت پرآوری، به منظور ریشه‌زایی به محیط‌های کشت جدید منتقل شدند. در مرحله پایانی، برای سازگار شدن گیاهچه‌های ریشه‌دارشده بسترهای کشت مختلف ارزیابی شد.

مواد و روش‌ها

پژوهش در آزمایشگاه کشت بافت، گروه علوم باغبانی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان واقع در شهرستان باوی در سال ۱۳۹۷ انجام شد. سوخ‌های مورد استفاده گل‌مریم از شهرستان دزفول تهیه و تا زمان استفاده در انبار خنک و تاریک نگهداری شدند. در پژوهش حاضر از ریزنمونه گندزدایی شده جوانه جانبی سوخ استفاده شد.

گندزدایی ریزنمونه جوانه جانبی

گندزدایی با قرار دادن سوخ کامل در زیر جریان آب لوله در آزمایشگاه، به‌مدت یک ساعت، سپس تیمار با قارچکش بنومیل ۷ در هزار به‌مدت یک ساعت و شستشو با آب‌مقطر انجام شد. در ادامه این مرحله، ابتدا جوانه‌های جانبی سوخ‌ها را جدا کرده و با الکل اتیلیک ۷۰ درصد به‌مدت ۶۰ ثانیه و سپس مایع سفیدکننده ۳۰ درصد (۵/۲۵ درصد کلر فعال) به‌مدت ۱۰ دقیقه تیمار و پس از ۳ مرحله شستشو با آب‌مقطر، هر مرحله ۳ دقیقه، استفاده شدند.

آزمایش باززایی از جوانه جانبی

به منظور باززایی و پرآوری شاخساره از ریزنمونه جوانه جانبی، آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور (تنظیم‌کننده‌های رشد و غلظت‌های مختلف محیط‌کشت) در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار (هر تکرار شامل پنج شیشه کشت و در هر شیشه کشت یک ریزنمونه) اجرا گردید. در آزمایش از ۹ تیمار هورمونی شامل غلظت‌های مختلف KIN (۰/۵، ۱/۰ و ۲/۰ و ۴/۰ میلی‌گرم در لیتر) به تنهایی و (۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۰ و ۲/۰ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با غلظت‌های مختلف BAP (۰/۲۵، ۰/۵، ۱/۰ و ۲/۰ میلی‌گرم در لیتر) و شاهد (بدون تنظیم‌کننده رشد) و سه غلظت محیط‌کشت MS (تمام قدرت، نیم قدرت و یک‌چهارم قدرت)

استفاده گردید. پس از گذشت هشت هفته، شاخص‌های تعداد و طول شاخساره اندازه‌گیری شدند.

آزمایش ریشه‌زایی شاخساره

به منظور ریشه‌زایی، شاخساره‌ها به محیط‌های کشت حاوی تنظیم‌کننده رشد NAA با سه غلظت (۰/۵، ۰/۷۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر) در ترکیب با ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA و شاهد (محیط‌کشت MS بدون تنظیم‌کننده رشد) منتقل شدند. آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار (هر تکرار شامل پنج شیشه کشت و در هر شیشه کشت یک گیاه) انجام شد. پس از گذشت ۲۱ روز، گیاهچه‌ها به محیط‌کشت MS منتقل شدند و ۱۰ روز بعد تعداد ریشه و طول ریشه اندازه‌گیری شد.

آزمایش سازگاری گیاهچه‌های مریم

به منظور سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده اثر ۵ بستر کشت در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۳ تکرار بررسی شد. ابتدا گیاهچه‌های ریشه‌دار شده را در زیر دستگاه جریان هوا از محیط آگار خارج کرده و برای زدودن آگار، ریشه گیاهچه‌ها قبل از انتقال به گلدان‌های آلومینیومی گندزدایی‌شده، با آب‌مقطر اتوکلاو شده آب‌کشی شدند. سپس گیاهچه‌ها در ۵ نوع بستر کشت گلدانی شامل پیت ماس، کوکوپیت، ماسه، پیت ماس توأم با کوکوپیت (۱:۱) و ماسه توأم با کوکوپیت و پیت ماس (۱:۱:۱) در عمق مناسب کشت‌شده و با آب‌مقطر آبیاری شدند و درون کیسه‌های پلاستیکی شفاف درب بسته قرار گرفتند. بعد از ۲ هفته، کیسه‌های پلاستیکی برداشته شدند. آبیاری با محلول هوگلند یک‌دهم غلظت از هفته سوم به بعد انجام شد. بعد از ۴ هفته گیاهچه‌های سازگارشده، در گلدان‌های پلاستیکی محتوی ماسه توأم با کود حیوانی پوسیده (۱:۳) کشت گردیدند و به گلخانه با شرایط دمایی ۲۸ درجه سلسیوس در روز و ۲۰ درجه سلسیوس در شب و ۷۰ درصد رطوبت نسبی منتقل شدند.

محاسبات آماری

داده‌های به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS (۹/۳) تجزیه و تحلیل شد. مقایسه میانگین‌ها در سطح احتمال پنج درصد با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد. هم‌چنین از نرم‌افزار اکسل جهت رسم نمودارها استفاده گردید.

نتایج و بحث

آزمایش اول: اثر غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS و تنظیم‌کننده‌های رشد بر پرآوری شاخساره

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS، غلظت‌های مختلف هورمون و برهمکنش آن‌ها اثر معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد بر تعداد شاخساره و طول شاخساره داشت (جدول ۱). نتایج اثر غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS بر تعداد شاخساره حاصل از ریزنمونه جوانه جانبی سوخ گل‌مریم نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره از محیط‌کشت MS تمام قدرت با میانگین ۱/۶۴ و محیط‌کشت MS نیم‌قدرت با میانگین ۱/۵۳ به‌دست‌آمد (شکل ۱). هم‌چنین بررسی نتایج اثر غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS بر طول شاخساره نشان داد که بلندترین طول شاخساره از محیط‌کشت MS تمام قدرت با میانگین ۱/۴۹ سانتی‌متر به‌دست‌آمد و کوتاه‌ترین طول شاخساره با میانگین ۰/۶ سانتی‌متر در محیط‌کشت MS یک‌چهارم قدرت مشاهده شد (شکل ۱).

نتایج اثر غلظت‌های مختلف هورمون بر تعداد شاخساره نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ۲/۸۴ در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد و کمترین تعداد شاخساره بعد از شاهد از محیط‌کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر KIN به‌دست‌آمد (شکل ۲). هم‌چنین نتایج نشان داد که بلندترین طول شاخساره (۲/۳۴ سانتی‌متر) در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP مشاهده شد و کوتاه‌ترین طول شاخساره بعد از شاهد از محیط‌کشت MS حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر KIN به‌دست‌آمد (شکل ۲).

Table 1. Analysis of variance of the effect of different concentrations of MS medium and growth regulators on number and length of shoot in proliferation experiment

Source of variations	df	Mean of squares	
		Shoot number	Shoot length
Concentration of MS medium	2	4.40**	5.69**
Concentration and type of growth regulator	8	6.81**	5.17**
Concentration and type of growth regulator × concentration of MS medium	16	1.87**	1.32**
Error	54	0.09	0.03
C.V. (%)	–	22.31	17.66

**significant at p<0.01.

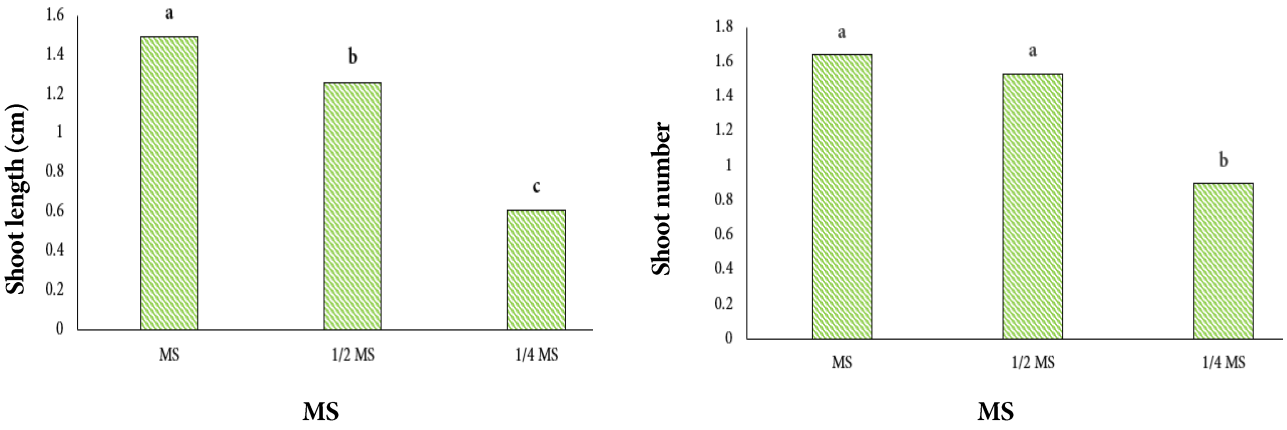


Figure 1. Effect of different concentrations of MS medium on the number of shoots (left) and length of shoots (right) obtained from the bulb explant of tuberose. In each chart, columns with the same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level

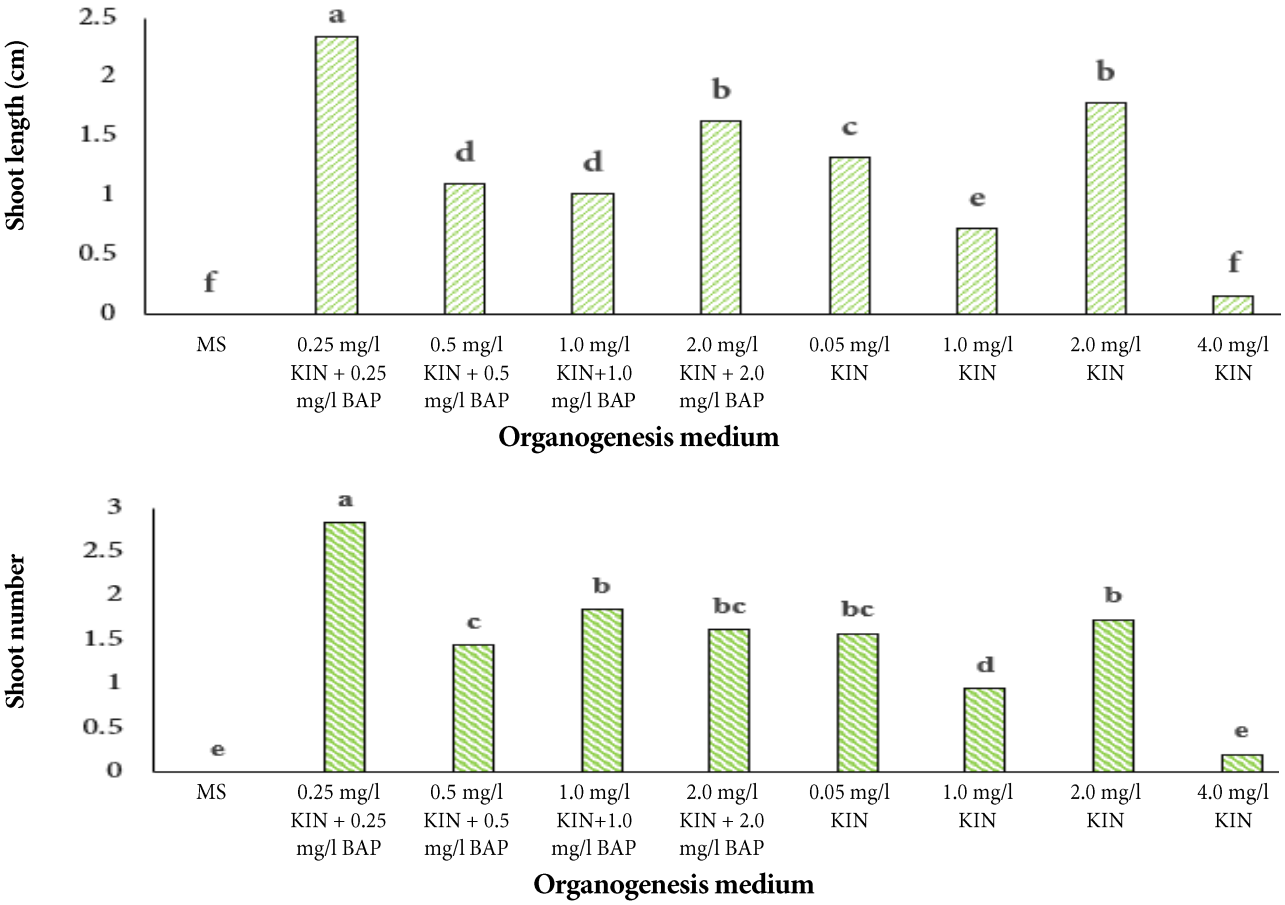


Figure 2. Effect of different concentrations of growth regulators on the number (right) and length(left) of shoots obtained from the bulb explant of tuberose. In each chart, column with same letter is not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level

اثر برهمکنش غلظت‌های مختلف MS و غلظت‌های مختلف هورمونی نشان داد که بیشترین تعداد شاخساره با میانگین ۴/۸ در محیط‌کشت MS تمام قدرت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بود اما در محیط‌کشت MS تمام قدرت و MS یک‌چهارم قدرت حاوی ۴ میلی‌گرم در لیتر KIN و غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS (تمام قدرت، نیم قدرت و یک‌چهارم قدرت) بدون تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی هیچ‌گونه شاخساره‌ای مشاهده نشد (شکل ۳).

اثر غلظت‌های مختلف محیط‌کشت MS و محیط‌های کشت پرآوری شاخساره نشان داد که بیشترین طول شاخساره با میانگین ۳/۷۵ سانتی‌متر مربوط به محیط‌کشت MS تمام قدرت حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بود (شکل ۴).

نتایج این آزمایش نشان داد که با کاهش غلظت محیط‌کشت MS همراه با افزایش غلظت هورمون‌های KIN و BAP، طول و تعداد شاخساره‌ها کاهش یافت. سیتوکینین‌ها بیشترین تأثیر را بر تولید شاخساره‌ها داشته و در غلظت پایین بیشترین تعداد گیاهچه را باعث شده است و غلظت بالا مانع از تشکیل شاخساره گردید. نتایج این آزمایش با نتایج پژوهش Panigrahi and Saiyad (2013) روی سوخ گونه مریم همخوانی دارد.

Parvin et al. (2019) گزارش دادند که اندام‌زائی مستقیم از ریزنمونه جوانه انتهایی زعفران زینتی در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر TDZ، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BAP، ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر KIN و ۰/۱ میلی‌گرم در لیتر IBA بهترین نتیجه را در پی داشت.

بالا بودن سطوح سیتوکینین باعث تولید شاخساره‌های کوچکی می‌شود که از رشد طولی آن‌ها جلوگیری می‌شود. غلظت بالای سیتوکینین باعث می‌شود که در برخی گونه‌ها، برگ‌ها شکل غیرطبیعی به خود بگیرند (George et al., 2007). کاربرد سیتوکینین‌ها مانند KIN در محیط‌کشت باعث رشد سریع جوانه جانبی شاخه‌های سربرداری شده می‌شود (Sachs and Thimnn, 1967). BAP می‌تواند سنتز سیتوکینین‌های طبیعی گیاه را تحریک کند و تشکیل شاخساره‌های جدید را بهبود بخشد (Magyar-Taori et al., 2010). غلظت‌های بالاتر از ۱۰میلی‌گرم در لیتر هورمون BAP باعث جلوگیری از رشد طولی شاخساره، کوتاهی میانگره‌ها، شاخساره‌های قطور و کوتاه وکم شدن ریشه می‌شود (Sachs and Thimnn, 1967). سیتوکینین‌ها تقسیم سلول را از طریق تأثیر بر عواملی که عبور آن را از چرخه تقسیم سلولی مهار می‌کنند، کنترل می‌کند. سیتوکینین‌ها علاوه بر این‌که سرعت تقسیم را تنظیم می‌کنند، رشد جوانه‌های جانبی را نیز تحریک می‌کنند (Garcia-Ferriz et al., 2000).

سیتوکینین‌ها نقش اساسی در تقسیم سلولی داشته و سبب رفع غالبیت انتهایی، القا و رشد شاخساره می‌شوند. نوع و غلظت سیتوکینین‌ها عامل مهمی در موفقیت پرآوری درون شیشه‌ای است (Grattapglia and Machado,1998). همچنین تولید شاخساره پرآوری شده در محیط‌های کشت دارای سیتوکینین، اغلب نتیجه آزاد شدن جوانه‌های جانبی از چیرگی جوانه‌های انتهایی است (Jafari et al., 2017).

آزمایش دوم: اثر غلظت‌های مختلف NAA و IBA بر ریشه‌زایی شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر غلظت‌های مختلف NAA و IBA در محیط‌کشت ریشه‌زایی بر شاخص‌های تعداد و طول ریشه‌ها در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج اثر غلظت‌های اکسین نشان داد که بیشترین تعداد ریشه با میانگین ۱۴/۹ در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌دست‌آمد اما در محیط‌کشت شاهد (بدون تنظیم‌کننده رشد گیاهی) ریشه‌دهی رخ نداد (شکل ۵). هم‌چنین نتایج این بررسی نشان داد که تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA بیشترین طول ریشه (۱/۲۲ سانتی‌متر) را باعث شد (شکل ۵).

بیشتر گیاهان برای ریشه‌زایی مؤثر به اکسین نیازمند هستند. تنظیم‌کننده رشد اکسین تنها برای القای ریشه ضروری است و پس از آن از رشد ریشه جلوگیری می‌کند. بنابر گزارش Barcelo et al. (1988) نوک شاخساره محل تولید و سنتز اکسین بوده که وقتی به سمت قاعده ساقه حرکت می‌کند سبب ریشه‌زایی و طویل شدن ریشه می‌شود. با این وجود کیفیت شاخساره در مرحله ازدیاد هم عامل تعیین‌کننده در کیفیت ریشه‌دهی است. تنظیم‌کننده رشد اکسین در بسیاری از گیاهان به‌صورت موفقیت‌آمیزی برای افزایش درصد ریشه‌زایی مورد استفاده قرار گرفته است (Jafari et al., 2017). غلظت پایین اکسین باعث افزایش رشد ریشه شده، اما غلظت بالای اکسین مانع رشد ریشه می‌شود و علت آن تولید اتیلن در غلظت بالای اکسین است (George et al., 2007).

اثر مثبت اکسین بر ریشه‌زایی احتمالاً به این خاطر می‌باشد که اکسین با حمل کربوهیدرات‌ها و سایر مواد مغذی به منطقه ریشه و به طبع تحریک تقسیم و طویل شدن سلول‌های این منطقه سبب تولید و تحریک تراکم ریشه‌زایی می‌شود (Milleton et al., 1980). ریشه‌زایی گیاهچه‌های گلایول در محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر IBA توسط Ziv (1979) گزارش شده است که نتایج این آزمایش با آن مطابقت دارد.

آزمایش سوم: اثر نوع بستر کشت بر درصد سازگاری گیاهچه‌های ریشه‌دار شده

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که درصد زنده‌مانی گیاهگ‌ها تحت تأثیر نوع بستر سازگاری قرار نگرفت (جدول ۳). در پژوهش حاضر میزان زنده‌مانی گیاهچه‌ها در تمام بسترها موفقیت‌آمیز بود.

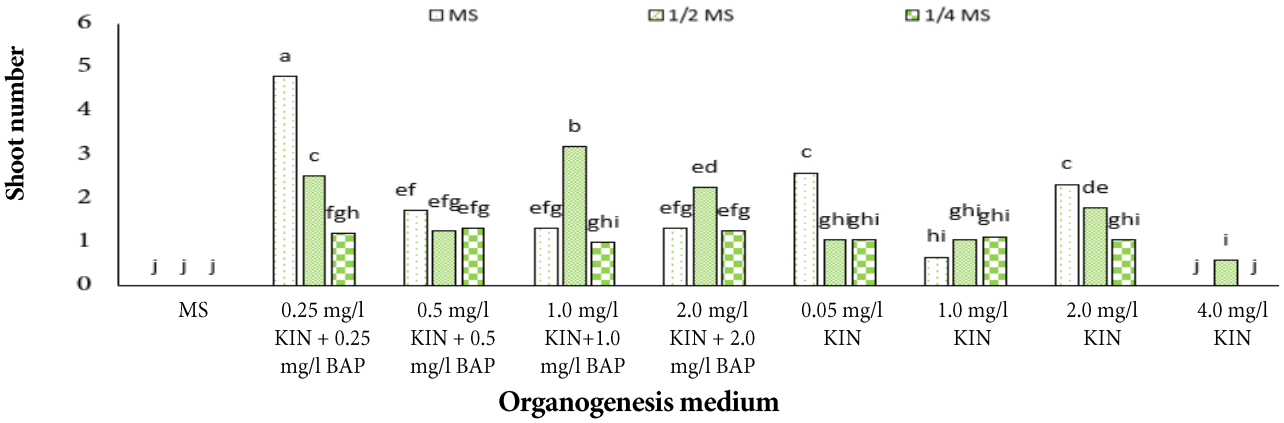


Figure 3. Mean comparison for interaction effects of the different concentrations of MS medium and growth regulators on number of shoots obtained from the bulb explant of tuberose. In each chart, column with same letter is not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level

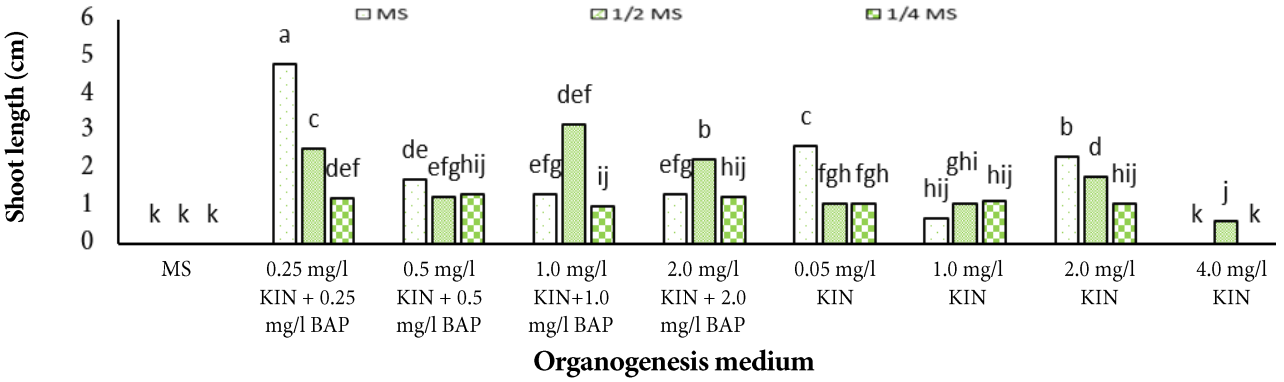


Figure 4. Mean comparison for interaction effects of the different concentrations of MS medium and growth regulators on length of shoots (cm) obtained from the bulb explant of tuberose. In each chart, column with same letter is not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level

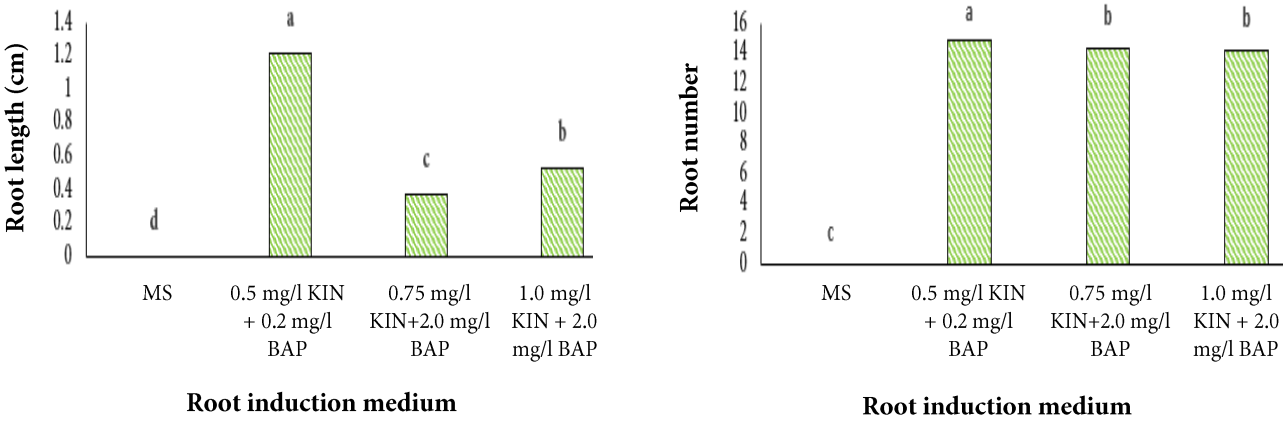


Figure 5. Effect of the different concentrations of IBA and NAA, on the root number (left) and root length (right) of bulb explant of tuberose. In each chart, columns with same letter are not significantly different by Duncan's multiple range test at 5% probability level

Table 3. Analysis of variance of the effect of different substrate of beds on survival percentage of plantlets in acclimatization experiment

Source of variation	df	Mean of squares
		Survival percentage
Culture substrate	4	104.16^{ns}
Error	10	291.66
C.V. (%)	-	20.49

ns: Non-significant at p<0.01.

Table 2. Analysis of variance for the effect of media with different concentration of growth regulators on the number and length of roots in rooting experiment

Source of variation	df	Mean of squares	
		Root number	Root length
Root induction medium	3	156.980**	0.785**
Error	8	0.043	0.001
C.V. (%)	-	1.92	8.33

**significant at p<0.01.



Figure 6. *In vitro* organogenesis stages of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.) in direct organogenesis

نتیجه‌گیری

در آزمایش پرآوری جوانه جانبی سوخ گل‌مریم، بهترین تیمار محیط‌کشت MS تمام قدرت و محیط‌کشت MS حاوی ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر KIN همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم در لیتر BAP بود. برای آزمایش ریشه‌زایی نیز محیط‌کشت MS حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA به همراه ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر IBA قابل استفاده است. در مرحله سازگاری میزان زنده‌مانی گیاهچه‌ها در تمام بسترها یکسان بود.

سپاس‌گزاری

با سپاس از اعضای محترم گروه علوم باغبانی، آزمایشگاه بیوتکنولوژی وکشت بافت گروه علوم باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان که در این راه ما را همراهی نمودند.

References

Barba-Gonzalez , R., Rodriguez-Dominguez, J. M., Castaneda-Saucedo, M. C., Rodriguez, A., Van Tuyl, J. M., & Tapia-Campos, E. (2012). Mexican Geophytes I. The Genus Polianthes. *Floriculture and Ornamental Biotechnology*, 6(1), 122–128.

Barcelo, C. J., Nicolas, R. G., Sabater, G. B., & Sanchez, T. R. (1988). *In vitro* propagation of cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) with different auxin and cytokinin types and concentrations. *Asian Journal of Plant Science*, 12, 639-646.

Benschop, M., De Hertogh, A., & Le Nard, M. (1993). *The physiology of flower bulbs*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.

Bose, T. K., Jana, B. K., & Moulik, S. (1987). A note on the micropropagation of tuberose from stem scale section. *Indian Journal of Horticulture*, 44(1-2), 100-101.

Brundell, D. J., & Steenstra, D. R. (1985). The effect of protected cultivation, presprouting and lateral tuber removal on tuberose production. *Acta Horticulture*, 177, 361-368.

Chithra, M., Martin, K. P., Sunandakumari, C., & Madhusoodanan, P. V. (2005). Protocol for rapid propagation and to overcome delayed rhizome formation in field established *in vitro* derived plantlets of *Kaempferia galanga* L. *Scientia Horticulture*, 104(1), 113-120.

Damino, C., Ferraiolo, G., & Baudoin, W. O. (2000). *Ornamental plant propagation in the tropics*. Roma, Italia: Plant production and production (FAO).

De Hertogh, A. A., & Le Nard. M. (1993). *The physiology of flower bulbs*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier.

Garcia-Ferriz, L., Ghorbel, R., Ybarra, M., Belaj, A., & Trujilio, I. (2000). Micropropagation from Adult olive trees. *Acta Horticulture*, 585, 879-882.

George, E. F., Hall, M. A., & De Klerk, G. J. (2007). *Plant propagation by tissue culture*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer Science and Business Media.

Grattapaglia, D., & Machado, M. A. (1998). Micropropagation. In: Torres, A.C., Caldas, L. S., & Buso, J. A. (Eds.). *Cultura de tecidos e transformacao genetica de plantas* (pp. 183-247). Brasilia: Embrapa-SPI/Embrapa-CNPH.

Hernández-Mendoza, F., Carrillo-Castañeda, G., Pedraza-Santos, M. E., De la Cruz-Torres, E., & Mendoza-Castillo, M. (2015). Regeneración *in vitro* de brotes de *Polianthes tuberosa* L. a partir de yemas vegetativas de la inflorescencia y de tejido de cormo. *Nova Scientia*, 7(13), 32-47.

Hodges, L. (2010). Tuberose as a cut flower. *Cut Flower*, 22, 55-59.

Jafari, S., Daneshvar, M. H., Salehi Salmi, M. R., & Abdi, L. J. (2017). Indirect organogenesis and plant regeneration in common Sage (*Salvia officinalis* L.): An important medicinal plant of Iran. *Modern Applied Science*, 11(5), 22-29.

Magyar-Tabori, K., Dobranszki, J., da Silva, J. A. T., Bulley, S. M., & Hudák, I. (2010). The role of cytokinins in shoot organogenesis in apple. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 101(3), 251-267.

Mane, P. k., Bankar, G. J., & Makne, S. S. (2006). Effect of spacing, bulb size and depth of planting on growth and bulb production in tuberose (*Polianthes tuberosa*) cv. Single. *Indian Journal of Agricultural Research*, 40(1), 64-67.

Milleton, W., Jarvis, B. C., & Booth, A. (1980). The role of auxins in leaves and boron dependent on rooting stem cuttings of *Phaseous aureus* Roxb. *New Phytologist*, 84, 251-259.

Naz, S., Aslam, F., Ilyas, S., Shahzadi, K., & Tariq, A. (2012). *In vitro* propagation of tuberose (*Polianthes tuberosa*). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(24), 4107-4112.

Nazneen, S., Mussarat, J., & Ilahi, I. (2003). Micropropagation of *Polianthes tuberosa* L. (Tuberose) through callus formation. *Pakistan Journal of Botany*, 35, 17-25.

Panigrahi, J., & Saiyad, M. S. L. (2013). *In vitro* propagation of *Polianthes tuberosa* L. cultivars (Calcutta single). *International Journal of Plant. Animal and Environmental Sciences*, 3(3), 76-79.

Parvin, S., Daneshvar, M. H., & Lotfi Jalal Abadi, A. (2019). *In Vitro* regeneration of ornamental Crocus (*Crocus vernus* L.) by using plant growth regulators. *Plant Productions*, 42(4), 429-440. [In Farsi]

Rahimi, M., & Daneshvar, M. H. (2016). Micropropagation of Fritillaria (*Fritillaria imperialis* L) through indirect regeneration in *in vitro* culture. *Plant Productions*, 39(4), 31-42. [In Farsi]

Rajasekaran, V., Haripriya, K., & Shakila, A. (2000). *In vitro* propagation of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). In spices and aromatic plants: challenges and opportunities in the new century. Contributory papers. Centennial conference on spices and aromatic plants, Calicut, Kerala, India, Indian Society for Spices, pp: 86-88.

Sachs, T., & Thimnn, K. V. (1967). The role of auxin and cytokinin in the release of buds from apical dominance. *American Journal of Botany*, 54(1), 136-144.

Sadhu, M. K., & Das, P. C. (1978). Effect of bulb size, planting density and depth of planting on growth, flowering and bulb production of tuberose (*Polianthes tuberosa* L.). *Indian Journal Horticulture*, 35, 147-150.

Sheela, V. L. (2008). Flowers for trade. India: New India Publishing.

Singh, P. V., & Kumar, M. (1999). Effect of spacing, depth and time of planting on growth, flowering and bulb production of tuberose cv. double. *Journal of Ornamental Horticulture*, 2(2), 127-130.

Staikidou, I., Watson, S., & Harvey, B. (2005). Narcissus bulblet formation *in vitro*: Effects of carbohydrate type and osmolarity of the culture medium. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 80, 313-320.

Verhoek, S. (1998). Agavaceae. In: Kubitzki, K. (Ed.). The families and genera of vascular plant (vol.3. pp: 60-70). Berlin: Springer.

Ziv, M. (1979). Transplanting gladiolus plant propagated *in vitro*. *Scientia Horticulture*, 11, 257-260.

Ziv, M., & Chen, J. (2003). Carbohydrate, metabolic and osmotic changes in scaled-up liquid cultures of Narcissus leaves. *In vitro Cellular and Developmental Biology*, 39, 645-650.