

اثر نوع محیط کشت، ساکارز و ترکیب تنظیم کننده رشد بر ریشه زایی گیاهچه های ژربرا در شرایط درون شیشه ای

Effect of Culture Medium Type, Sucrose and Growth Regulator Combination on Gerbera Plantlets Rooting *In Vitro*

احمد شریفی^۱، سیده مهدیه خرازی^{۲*}، مریم مرادیان^۳ و آزاده خادم^۴

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۲۷ تاریخ پذیرش: ۹۸/۰۱/۲۳

(مقاله پژوهشی کوتاه)

چکیده

ژربرا یکی از مهم ترین گل های شاخه بریده و گل دانی است و به طور معمول به روش های کشت درون شیشه ای تکثیر می گردد. جهت سازگاری مطلوب گیاهچه های کشت بافتی، داشتن سیستم ریشه ای قوی حائز اهمیت می باشد. در پژوهش حاضر تأثیر نوع نمک محیط کشت، ساکارز و ترکیب تنظیم کننده رشد بر ریشه زایی گیاهچه های ژربرا مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تکرار انجام شد. قبل از کشت، گیاهچه ها به مدت ۵ دقیقه در محلول های اسید جیبرلیک (۵ میلی گرم در لیتر)، ترکیب ۲/۵ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک به همراه ۵ میلی گرم در لیتر اسید ایندول استیک و آب مقطر به عنوان شاهد غوطه ور گردیدند و پس از آن در محیط کشت MS ½ و محیط کشت White تغییر یافته کشت گردیدند. هم چنین در محیط کشت های یاد شده، دو غلظت صفر و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز نیز استفاده گردید. در پایان آزمایش پارامترهای رشدی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج نشان داد گیاهچه های تولید شده در محیط کشت فاقد ساکارز دارای ریشه های کوتاه تری بودند و کاربرد ساکارز در محیط کشت باعث افزایش بیش از ۲/۵ برابر طول ریشه تولید شده گردید. هم چنین در شرایط عدم حضور ساکارز، تعداد ریشه اصلی و ثانویه به شدت کاهش یافت و گیاهچه های تولید شده، وزن کمتری را به خود اختصاص دادند. در محیط کشت MS ½ حاوی ساکارز و فاقد ترکیب تنظیم کننده رشد، بیش ترین تعداد ریشه ثانویه و وزن خشک گیاهچه حاصل و تعداد ریشه اصلی قابل قبولی نیز تولید شد. بنابراین جهت ریشه زایی گیاهچه های ژربرا در شرایط درون شیشه ای، کاربرد محیط کشت MS ½ حاوی ساکارز و فاقد تنظیم کننده رشد توصیه می گردد.

واژه های کلیدی: اسید جیبرلیک، ریشه ثانویه، وزن خشک گیاهچه، محیط کشت MS، محیط کشت White

۱، ۲، ۳ و ۴. استادیاران و مربیان گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی، مشهد، ایران

Email: ma_kh230@yahoo.com

*: نویسنده مسئول

ژبر را از جمله گیاهان زینتی است که بیشترین سطح زیر کشت را در غرب اروپا دارد و سابقه کشت آن به منظور گل شاخه بریده به اوایل قرن بیستم در فرانسه باز می‌گردد. اهمیت تجاری آن روز به روز در حال افزایش است، به نحوی که یکی از مهم‌ترین گل‌های شاخه بریده در بین ۱۰ گل شاخه بریده برتر جهان قرار دارد (شریفی^۱ و همکاران، ۲۰۱۰). مطالعات نشان می‌دهد عمومی‌ترین سیستم برای ازدیاد تجاری ژبر را ریزازدیادی است و روش‌های معمول تکثیر کارایی تأمین تقاضای جهانی برای این گیاه را ندارد (کانوار و کومار^۲، ۲۰۰۸). 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 به دست آمده مشابه گیاه مادری نیستند (جراردو^۳، ۲۰۰۲). در حال حاضر گیاه ژبر در بیش از ۲۵ کشور دنیا در سطحی معادل با ۱۱ تا ۱۲ هزار هکتار، به صورت گلخانه‌ای تولید می‌شود که ۵۰ درصد سطح زیر کشت آن متعلق به دو کشور هلند و ایتالیا است (جراردو، ۲۰۰۲). سطح زیر کشت این گیاه زینتی در ایران حدود ۲۰ هکتار می‌باشد و به دلیل بازاریابی مناسبی که دارد، هر روز بر سطح تولید و پرورش آن افزوده می‌شود (خلج^۴ و همکاران، ۲۰۱۱).

ایجاد سیستم ریشه‌ای قوی به منظور رشد و نمو سریع گیاهچه‌های کشت بافتی در شرایط برون شیشه‌ای اهمیت ویژه‌ای دارد. عوامل متعددی از جمله نوع نمک محیط کشت، ترکیب هورمونی و ساکارز بر فرایند ریشه‌زایی ژبر در شرایط درون شیشه‌ای تأثیرگذار می‌باشند (ورما^۵، ۲۰۱۲؛ راناشینگ^۶ و همکاران، ۲۰۰۶؛ سوسا^۷ و همکاران، ۲۰۰۶؛ کاردوسا و داسیلو^۸، ۲۰۱۲).

راناشینگ و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که افزایش غلظت ساکارز به ۸ گرم در لیتر، منجر به افزایش میزان رشد ریشه‌ها گردید ولی رشد شاخساره‌ها کاهش یافت. مایا^۹ و همکاران (۱۹۸۳) تغییراتی را در آخرین واکشت قبل از مرحله ریشه‌زایی شاخه‌های گیاه ژبر اعمال کردند. آن‌ها غلظت هورمونی محیط کشت را در آخرین مرحله تکثیر به نصف

کاهش دادند. سپس برای ریشه‌دار کردن شاخه‌های مذکور از محیط کشت MS دارای ۲/۵ میلی گرم در لیتر IAA استفاده کردند و موفق به ریشه‌دار کردن آن‌ها شدند و بیشترین تعداد ریشه‌زایی را در غلظت ۱۰ میلی گرم در لیتر IAA مشاهده کردند. هوئنگ^{۱۰} و همکاران (۱۹۸۷) برای ریشه‌دار کردن شاخه‌های ژبر در شرایط طبیعی ابتدا شاخه‌ها را به مدت ۳۰ ثانیه در محلول یک درصد IBA قرار داده و سپس بسترهای مختلف از جمله ماسه و کوکوپیت کشت کردند. در این روش آن‌ها موفق به ریشه‌دار کردن شاخه‌های مذکور شدند.

علاوه بر موارد یاد شده، ارتفاع گیاهچه‌های پرآوری شده نیز بسیار حائز اهمیت می‌باشد و این عامل تأثیر بسزایی بر فرایند ریشه‌زایی و سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی دارد. به طوری که گیاهچه‌هایی با ارتفاع بیشتر و کیفیت مطلوب‌تر، درصد ریشه‌زایی بالاتری را به خود اختصاص می‌دهند و در نتیجه شانس بیش‌تری برای سازگاری موفق دارند (ورما، ۲۰۱۲؛ براسارد^{۱۱} و همکاران، ۱۹۹۶). لذا هدف از چیدمان تیمارهای آزمایش فوق، بهبود کیفیت گیاهچه‌های کشت بافتی و به دنبال آن ریشه‌زایی مطلوب آن‌ها می‌باشد که بدین منظور اثرات نوع نمک محیط کشت، ساکارز و ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژبر در شرایط درون شیشه‌ای به منظور بهبود مرحله سازگاری گیاهچه‌ها در شرایط برون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه تحقیقاتی جهاد دانشگاهی خراسان رضوی در سال ۱۳۹۵ اجرا گردید. جهت بررسی اثرات نوع نمک محیط کشت، ساکارز و ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژبر در شرایط درون شیشه‌ای آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ عامل شامل نوع نمک محیط کشت، ساکارز و ترکیب هورمونی با ۴ تکرار انجام شد. بدین منظور از گیاهچه‌های کشت بافتی ژبر به عنوان مواد گیاهی استفاده شد. قبل از کشت گیاهچه‌ها، به منظور بررسی اثر ترکیب هورمونی بر ریشه‌زایی و رشد، گیاهچه‌ها به مدت ۵ دقیقه در محلول‌های هورمونی ذیل: اسید جیبرلیک^{۱۲} (۵ میلی گرم در لیتر)، ترکیب ۲/۵ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک به همراه ۵ میلی گرم در لیتر ایندول استیک اسید^{۱۳} و آب مقطر به عنوان شاهد غوطه‌ور گردیدند و پس از آن در محیط کشت MS ½ و محیط کشت تغییر یافته White کشت

1. Sharifi
2. Kanwar and Kumar
3. Gerado
4. Khalaj
5. Verma
6. Ranasinghe
7. Sousa
8. Cardoso and da Silva
9. Maia

10. Huang
11. Brassard
12. Gibberellic acid
13. Indole-3-acetic acid

گردیدند که در جدول ذیل به نوع و مقادیر عناصر به کار رفته در محیط کشت‌ها اشاره شده است.

جدول ۱: مقادیر عناصر به کار رفته در محیط کشت‌های مورد بررسی

Table 1: The amount of used elements in the culture media

اجزای محیط کشت Medium Components	محیط کشت ½ MS ½ MS Medium*	محیط کشت White تغییر یافته Modified White Medium**
عناصر پرمصرف (میلی گرم بر لیتر) Macro elements (mg/l)		
NH ₄ NO ₃	825	-
KNO ₃	950	80
CaCl ₂ .2H ₂ O	220	-
MgSO ₄ .7 H ₂ O	185	750
KH ₂ PO ₄	85	-
NaH ₂ PO ₄ , H ₂ O	-	10
Ca(NO ₃) ₂ , 4H ₂ O	-	300
KCL	-	65
Na ₂ SO ₄	-	200
عناصر کم مصرف (میلی گرم بر لیتر) Micro elements (mg/l)		
H ₃ BO ₃	6.2	6.2
MnSO ₄ .4H ₂ O	22.3	22.3
ZnSO ₄ . 7H ₂ O	8.6	8.6
KI	0.83	0.83
Na ₂ MoO ₄ . 2H ₂ O	0.25	0.25
CoCl ₂ .6H ₂ O	0.025	0.025
CuSO ₄ . 5H ₂ O	0.025	0.025
آهن (میلی گرم بر لیتر) Iron (mg/l)		
FeSO ₄ . 7H ₂ O	27.8	27.8
Na ₂ EDTA	37.3	37.3
ویتامین (میلی گرم بر لیتر) Vitamin (mg/l)		
Myo-inositol	100	100
Nicotinic acid	0.5	0.5
Pyridoxine HCl	0.5	0.5
Thiamine HCl	0.1	0.1
Glycine	2	2

*: در محیط کشت ½ MS، تنها غلظت نمک‌های ماکرو به نصف کاهش یافت، **: در این محیط کشت، تنها از نمک‌های پرمصرف

محیط کشت White استفاده گردید و سایر عناصر از محیط کشت MS تأمین گردید

خشک کل گیاهچه، وزن خشک شاخساره و ریشه، تعداد و طول ریشه اصلی، تعداد ریشه ثانویه در گیاهچه اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و پس از گذشت ۷۲ ساعت، توزین گردیدند. ارتفاع گیاهچه‌ها نیز با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل‌های آماری

آماده‌سازی داده‌ها در برنامه Excel و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Jump 8 انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها

هم‌چنین جهت بررسی اثر ساکارز بر ریشه‌زایی گیاهچه‌ها، در محیط کشت‌های یاد شده، از غلظت‌های صفر و ۳۰ گرم در لیتر ساکارز نیز استفاده گردید. از آگار با غلظت ۸ گرم در لیتر برای نیمه‌جامد نمودن محیط کشت استفاده گردید. قبل از افزودن آگار، pH محیط کشت در ۵/۷ تنظیم گردید و سپس محیط کشت‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد اتوکلاو شدند. پس از کشت، گیاهچه‌ها به شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی (۵۰۰۰ لوکس) در دمای ۲۵±۱ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند و در فاصله زمانی ۴ هفته واکشت انجام شد. در پایان آزمایش صفاتی همچون ارتفاع گیاهچه، تعداد برگ و تعداد جوانه جانبی در گیاهچه، وزن

با آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد و نمودارها نیز با استفاده از برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس داده‌های آزمایش نشان داد که اثر ساکارز و ترکیب هورمونی بر وزن خشک ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. کاربرد ساکارز در تمامی ترکیبات هورمونی، تأثیر قابل توجهی بر افزایش وزن خشک ریشه تولیدی داشت و بیش‌ترین میزان این صفت در محیط کشت حاوی ساکارز و فاقد هورمون مشاهده شد که نسبت به محیط کشت فاقد ساکارز و هورمون به میزان بیش از ۲۰ برابر بیش‌تر بود (جدول ۲).

هم‌چنین شمارش تعداد ریشه اصلی تولید شده نیز نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار تیمارها بر این صفت بود. در تمامی ترکیبات هورمونی مورد استفاده، محیط کشت حاوی ساکارز تأثیر مطلوب‌تری نسبت به محیط کشت فاقد ساکارز بر تعداد ریشه اصلی تولید شده داشت. بیش‌ترین تعداد ریشه اصلی در شرایط حضور ساکارز و ترکیب هورمونی اسید جیبرلیک مشاهده شد، ولی باین‌حال تفاوت معنی‌داری با سایر ترکیبات هورمونی در محیط کشت حاوی ساکارز نداشت (جدول ۲).

از لحاظ تعداد ریشه ثانویه تولیدی نیز همان‌گونه که در جدول ۳ مشاهده می‌گردد، شرایط عدم حضور ساکارز در ترکیب محیط کشت تأثیر نامطلوبی بر این پارامتر داشت و در چنین شرایطی هیچ‌گونه ریشه ثانویه‌ای تولید نگردید. محیط کشت حاوی ساکارز و فاقد هورمون منجر به تولید بیش‌ترین تعداد ریشه ثانویه (۱۲/۳۷) گردید که تفاوت معنی‌داری با سایر تیمارها داشت. افزایش تعداد ریشه ثانویه منجر به افزایش سطح جذب عناصر غذایی توسط ریشه گیاه می‌گردد که به دنبال آن میزان رشد گیاه نیز افزایش می‌یابد (کارنریو^۱ و همکاران، ۲۰۰۲).

علاوه‌بر تأثیر ساکارز و ترکیب هورمونی، اثر متقابل نوع محیط کشت و ساکارز نیز بر تعداد ریشه ثانویه تولید شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. اندازه‌گیری تعداد ریشه ثانویه تولید شده نشان داد که در شرایط عدم حضور ساکارز در محیط کشت، هیچ‌گونه ریشه ثانویه‌ای تولید نگردید، درحالی‌که در هر دو نوع محیط کشت مورد استفاده، کاربرد ساکارز تأثیر چشم‌گیری بر تولید ریشه‌های ثانویه داشت. با این‌حال کاربرد محیط کشت MS ۱/۲ باعث افزایش ۳۶ درصدی تعداد ریشه‌های ثانویه تولیدی در مقایسه با محیط کشت White گردید (شکل ۱).

مقاله کوتاه

نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد نوع محیط کشت تأثیر معنی‌داری بر طول ریشه تولید شده داشت، به‌طوری‌که گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت White، ریشه‌های طول‌تری نسبت به محیط کشت MS ۱/۲ تولید و اختلاف معنی‌داری را ایجاد نمودند. هم‌چنین طول ریشه تولید شده تحت تأثیر حضور ساکارز در محیط کشت نیز قرار گرفت، به‌طوری‌که گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت فاقد ساکارز دارای ریشه‌های کوتاه‌تری بودند و کاربرد ساکارز در محیط کشت باعث افزایش بیش از ۲/۵ برابری طول ریشه تولید شده گردید (شکل ۲).

ارزیابی اثر نوع محیط کشت و ساکارز بر ارتفاع گیاهچه تولید شده نشان‌دهنده تأثیر معنی‌دار این عوامل بر ارتفاع گیاهچه تولید شده بود. طول‌ترین گیاهچه‌ها با میانگین ۱۰ سانتی‌متر در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ساکارز به‌دست آمد. از سوی دیگر، کم‌ترین طول گیاهچه تولید شده نیز در محیط کشت MS ۱/۲ فاقد ساکارز مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری از این لحاظ با محیط کشت White فاقد ساکارز نداشت. در واقع کاربرد ساکارز در محیط کشت MS ۱/۲، باعث افزایش بیش از دو برابری طول گیاهچه تولید شده گردید (شکل ۳).

هم‌چنین توزین گیاهچه‌های کشت بافتی ژبراً نشان داد که اثر متقابل نوع محیط کشت و ساکارز بر وزن خشک گیاهچه رشد یافته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در هر دو نوع ترکیب محیط کشت، در شرایط عدم حضور ساکارز، کم‌ترین میزان وزن خشک گیاهچه تولیدی حاصل گردید و کاربرد ساکارز در محیط کشت، تأثیر چشم‌گیری بر افزایش وزن خشک گیاهچه داشت. گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت MS ۱/۲ حاوی ساکارز، بیش‌ترین میزان وزن خشک تولیدی را به خود اختصاص دادند. هم‌چنین کاربرد ساکارز در محیط کشت White باعث افزایش سه برابری وزن خشک گیاهچه تولیدی گردید (شکل ۳).

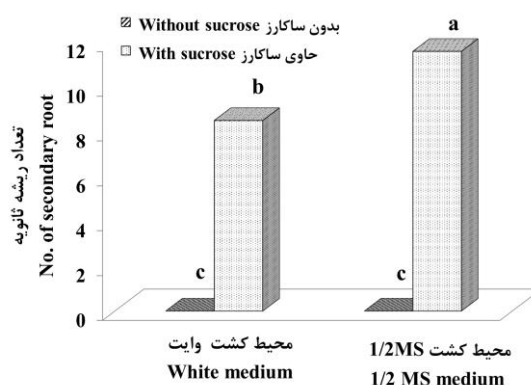
جدول ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل ساکارز و ترکیب هورمونی بر وزن خشک ریشه، تعداد ریشه اصلی و ثانویه ژربرا

Table 2: Mean comparison the interaction effect of sucrose and hormonal composition on root dry weight, number of primary and secondary root of gerbera plantlet

تعداد ریشه ثانویه	تعداد ریشه اصلی	وزن خشک ریشه (گرم)	ترکیب هورمونی	ساکارز
Secondary root number	Primary root number	Root dry weight (g)	Hormonal composition	Sucrose
0.00c	2.25b	0.002c	Hormone- free	محیط کشت فاقد ساکارز
0.00c	1.75bc	0.001c	IAA+GA ₃	محیط کشت حاوی ساکارز
0.00c	1.08c	0.001c	GA ₃	Medium with sucrose
12.37a	4.12a	0.041a	Hormone- free	محیط کشت حاوی ساکارز
8.12b	4.50a	0.027b	IAA+GA ₃	محیط کشت فاقد ساکارز
9.62b	4.87a	0.025b	GA ₃	Medium without sucrose

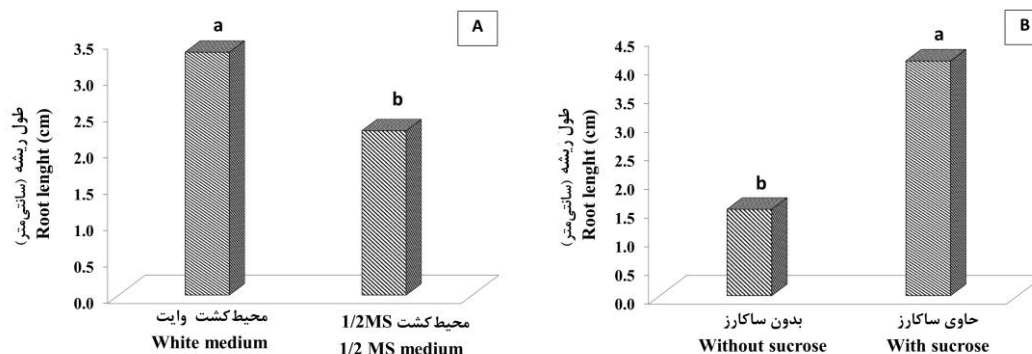
میانگین‌های دارای حروف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by LSD test at $p < 0.05$



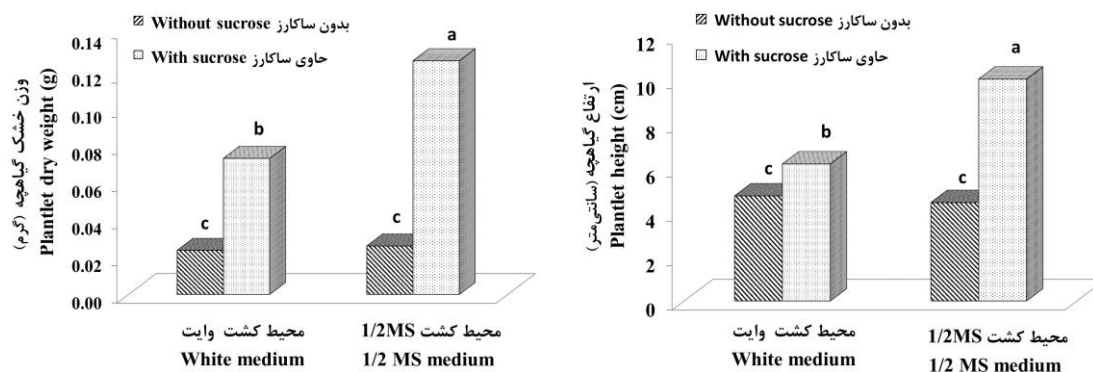
شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و ساکارز بر تعداد ریشه ثانویه تولید شده در گیاهچه ژربرا

Fig. 1: Mean comparison the interaction effect of medium type and sucrose on secondary root number of gerbera plantlet



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر نوع محیط کشت (الف) و ساکارز (ب) بر طول ریشه تولید شده گیاهچه ژربرا

Fig. 2: Mean comparison the effect of medium type (a) and sucrose (b) on root length of gerbera plantlet



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت و ساکارز بر ارتفاع و وزن خشک گیاهچه ژربرا

Fig. 3: Mean comparison the interaction effect of medium type and sucrose on height and dry weight of gerbera plantlet

نتایج مندرج در جدول ۳، اثرات سه گانه تیمارهای آزمایش را بر مهم ترین پارامترهای مورد ارزیابی در این پژوهش نشان می دهد. همان گونه که در این جدول مشاهده می گردد در هر دو نوع محیط کشت مورد بررسی، در تمامی ترکیبات هورمونی مورد استفاده، حضور ساکارز در محیط کشت تأثیر بسیار مطلوبی بر پارامترهای رشدی مورد ارزیابی داشت. در شرایط عدم حضور ساکارز، تعداد ریشه اصلی و ثانویه به شدت کاهش یافت و گیاهچه های تولید شده، وزن کمتری را به خود اختصاص دادند. در محیط کشت $\frac{1}{2}$ MS حاوی ساکارز و فاقد ترکیب هورمونی، بیشترین تعداد ریشه ثانویه و وزن خشک

گیاهچه تولیدی حاصل شد و تعداد ریشه اصلی قابل قبولی را نیز تولید نمود. با این حال از لحاظ هر سه پارامتر رشدی مورد ارزیابی، تفاوت معنی داری با محیط کشت $\frac{1}{2}$ MS حاوی ساکارز و اسید جیبرلیک نداشت، ولی از آنجایی که هزینه تولید تجاری در شرایط کشت درون شیشه ای یکی از فاکتورهای محدود کننده می باشد، لذا در شرایط عدم کاربرد ترکیب هورمونی، هزینه تولید کاهش می یابد. بنابراین جهت ریشه زایی گیاهچه های ژربرا در شرایط درون شیشه ای کاربرد محیط کشت $\frac{1}{2}$ MS حاوی ساکارز و فاقد هورمون توصیه می گردد.

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل نوع محیط کشت، ساکارز و ترکیب هورمونی بر تعداد ریشه اصلی، ثانویه و وزن خشک گیاهچه ژربرا

Table 3: Mean comparison the interaction effect of medium type, sucrose and hormonal composition on primary and secondary root number and dry weight of gerbera plantlet

وزن خشک گیاهچه (گرم) Plantlet dry weight (g)	تعداد ریشه ثانویه Number of secondary root	تعداد ریشه اصلی Number of primary root	ترکیب هورمونی Hormonal composition	ساکارز Sucrose	نوع محیط کشت Type of medium
0.02d	0d	3.0de	Hormone- free	فاقد ساکارز	محیط کشت سفید White medium
0.02d	0d	2.3ef	IAA+GA ₃	Without sucrose	
0.02d	0d	1.5fg	GA ₃		
0.08c	12ab	4.5bc	Hormone- free	حاوی ساکارز	
0.07c	6c	5.5ab	IAA+GA ₃	With sucrose	محیط کشت ½ MS ½ MS medium
0.07c	8c	6.0a	GA ₃		
0.03d	0d	1.5fg	Hormone- free	فاقد ساکارز	
0.03d	0d	1.3fg	IAA+GA ₃	Without sucrose	
0.02d	0d	0.7g	GA ₃		
0.14a	13a	3.8cd	Hormone- free	حاوی ساکارز	
0.11b	10b	3.5cd	IAA+GA ₃	With sucrose	
0.13ab	12ab	3.8cd	GA ₃		

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری ندارند

Means followed by the same letters in each column are not significantly different by LSD test at $p < 0.05$

بحث

ریزازدیادی در شرایط کشت بافت به پنج مرحله تقسیم می گردد که چهارمین مرحله شامل طویل شدن گیاهچه های کشت بافتی و ریشه دهی می باشد (کومار و ردی^۱، ۲۰۱۱). این مرحله، آخرین مرحله از مراحل کشت درون شیشه ای^۲ می باشد که پس از آن گیاهان به شرایط برون شیشه ای^۳ منتقل می شوند. طول شاخساره های پرآوری شده به طور معنی داری فرایند ریشه دهی و سازگاری را تحت تأثیر قرار می دهد، به طوری که در پژوهش براسارد و همکاران (۱۹۹۶) گیاهچه هایی با ارتفاع اولیه ۳۰-۸۰ میلی متر در مقایسه با گیاهچه هایی با ارتفاع ۵-۱۰ میلی متر، ریشه دهی بهتری را از خود نشان دادند و سازگاری آن ها نیز با موفقیت بیشتری همراه بود. در واقع طویل شدن شاخساره های کشت بافتی،

آن ها را برای آغاز ریشه های نابجا در شرایط درون شیشه ای مهیا می کند (بس^۴، ۱۹۹۰).

جهت طویل شدن گیاهچه های کشت بافتی، افزودن اسید جیبرلیک به محیط کشت می تواند مؤثر واقع شود و باعث رشد سریع شاخساره و تولید برگ های توسعه یافته ای گردد که گیاه را برای ورود به مرحله ریشه زایی و به دنبال آن مرحله سازگاری آماده نماید (ورما، ۲۰۱۲). اسید جیبرلیک باعث تحریک طویل شدن میانگره ها در شرایط این ویترو می گردد (پیریک^۵، ۱۹۹۷). علاوه بر این استفاده از اسید جیبرلیک در غلظت پایین، در محیط کشت ریشه زایی می تواند باعث تحریک تشکیل ریشه گردد. مورزدک و هورمانت^۶ (۱۹۹۷) تأثیر مثبت کاربرد اسید جیبرلیک (۱-۵ میلی گرم در لیتر) را بر گیاه *Globe artichoke* در مرحله ریشه زایی نشان دادند و گزارش کردند که اعمال این تیمار باعث تسریع ریشه دهی و تشکیل

4. Bhat

5. Pierik

6. Morzadec and Hourmant

1. Kumar and Reddy

2. *In vitro*

3. *In vivo*

ریزنمونه‌های با کیفیت گردید. در پژوهش کوماری و وارقیز^۱ (2003) گیاهچه‌های باززا شده از کالوس گیاه داوودی بسیار کوچک بودند که جهت تولید شدن گیاهچه‌ها به محیط کشت حاوی ۵-۱۰ میلی گرم در لیتر اسید جیبرلیک انتقال یافتند که نتیجه مطلوبی را از لحاظ تولید شدن گیاهچه‌ها در پی داشت. پس از گذشت ۱۰-۱۲ روز نیز ریشه‌زایی در همان محیط کشت رخ داد. نتایج مطالعه دیگیوز^۲ و همکاران (2007) بر روی گیاه ساج (*Tectona grandis*) نشان داد که کاربرد اسید جیبرلیک چه به صورت کاربرد در محیط کشت MS و چه به صورت غوطه‌وری ریزنمونه‌ها در محلول حاوی آن و سپس کشت ریزنمونه‌ها، تأثیر قابل توجهی بر افزایش طول شاخساره‌ها داشت. رانشینگ و همکاران (2006) نیز گزارش کردند که کاربرد اسید جیبرلیک در شرایط کشت درون شیشه‌ای، باعث افزایش وزن خشک شاخساره گیاهچه‌های ژربرا در مقایسه با گیاهان شاهد گردید. همچنین افزایش غلظت این هورمون از صفر به ۵ میلی گرم در لیتر منجر به افزایش ارتفاع، تعداد برگ و طول ریشه شد. در پژوهش حاضر نیز کاربرد اسید جیبرلیک باعث افزایش ارتفاع گیاهچه‌های ژربرا گردید، ولی با این حال اختلاف ایجاد شده از لحاظ آماری معنی‌دار نبود.

کربوهیدرات‌ها به عنوان منبع تأمین کننده انرژی و همچنین به عنوان عامل حفظ پتانسیل اسمزی در شرایط درون شیشه‌ای عمل می کنند (جی^۳ و همکاران، 2011). علاوه بر این رشد و آغاز ریشه از جمله مراحل هستند که به انرژی زیادی نیازمند هستند و با صرف سوسترای متابولیکی که عمدتاً کربوهیدرات‌ها می باشند، رخ می دهد. اصولاً در هر نوع محیط کشت قند جزء بسیار مهمی می باشد و چون معمولاً شرایط رشد برای فتوسنتز کافی نیست و یا اصولاً به علت تاریکی فتوسنتز انجام نمی شود، بنابراین اضافه نمودن قند به محیط کشت ضروری است (نورمن^۴ و همکاران، 2009). بافت‌های سبز در شرایط درون شیشه‌ای به قدر کافی اتوتروف (خودساز) نیستند و غلظت دی اکسید کربن در داخل لوله آزمایش می تواند عامل محدود کننده باشد و در عمل اضافه نمودن دی اکسید کربن خیلی مشکل و گران است (بیریک، 1998). در بین انواع مختلف کربوهیدرات‌ها، ساکارز به عنوان منبع کربن مناسبی در شرایط درون شیشه‌ای شناخته شده است (بورایا^۵ و همکاران، 2011). زیرا رایج ترین منبع

کربوهیدرات شناخته شده در شیره پرورده بسیاری از گیاهان، ساکارز می باشد. علاوه بر این ساکارز به راحتی قابل جابجا شدن می باشد و باعث حفظ پتانسیل اسمزی می گردد و در برابر تخریب آنزیمی مقاوم می باشد (فاطمیما^۶ و همکاران، 2015).

عدم حضور ساکارز در محیط کشت منجر به تحریک تشکیل برگ می گردد که علت آن عدم وجود منبع کربوهیدرات کافی جهت انجام فعالیت‌های متابولیکی است. بنابراین در چنین شرایطی گیاه برگ تولید می نماید تا بتواند با انجام فتوسنتز، کربوهیدرات مورد نیاز جهت رشد را تأمین نماید. به عبارت دیگر توانایی فتوسنتزی گیاهچه‌ها افزایش می یابد. باین حال از آنجایی که بافت‌های سبز در شرایط درون شیشه‌ای به قدر کافی اتوتروف نمی باشند، بنابراین در مقایسه با گیاهان رشد یافته در محیط کشت حاوی ساکارز، میزان پرآوری، وزن تر و خشک این گیاهان کاهش می یابد (جو^۷ و همکاران، 2009). نتایج پژوهش حاضر اختلاف معنی داری را بین محیط کشت حاوی ساکارز و محیط کشت فاقد ساکارز از لحاظ تعداد برگ تولیدی نشان نداد ولی با این حال وزن خشک گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت فاقد ساکارز در مقایسه با محیط کشت حاوی ساکارز پایین تر بود که این امر نشان می دهد گیاه انرژی کافی جهت انجام فعالیت‌های فتوسنتزی خود نداشته است که در نتیجه منجر به کاهش ماده خشک تولیدی گردیده است.

افزایش غلظت ساکارز در محیط کشت، منجر به افزایش تعداد سلول‌های روزنه، محتوای قند و نشاسته در گیاه آلوکاسیا گردید ولی از سوی دیگر، اندازه سلول‌های روزنه و پتانسیل آب برگ‌ها در شرایط درون شیشه‌ای کاهش یافت. کاربرد ساکارز با غلظت‌های ۶ و ۹ درصد، میزان پرآوری، وزن تر و خشک گیاهچه تولید شده را افزایش داد ولی باعث کاهش تعداد برگ‌های تولید شده گردید؛ بنابراین می توان گفت میزان فتوسنتز گیاهان رشد یافته در محیط کشت حاوی ساکارز کاهش می یابد که احتمالاً به دلیل حضور کافی منبع انرژی (ساکارز) جهت انجام سایر فعالیت‌های متابولیکی می باشد. دلیل احتمالی دیگر، کاهش سایر فعالیت‌های متابولیکی است که این امر به علت کاهش پتانسیل آب و به دنبال آن ایجاد تنش اسمزی می باشد (جو و همکاران، 2009). استفاده از ساکارز با غلظت ۳ درصد در محیط کشت، توانایی فتوسنتزی گیاه را به میزان قابل توجهی افزایش می دهد و در نتیجه درصد زنده مانگی گیاهچه‌ها افزایش می یابد. افزایش در ظرفیت فتوسنتزی و سازگاری گیاهان رشد یافته در غلظت ۳

1. Kumari and Varghese
2. De Gyves
3. Ji
4. Neumann
5. Abou Rayya

6. Fatima
7. Jo

درصد ساکارز به علت افزایش در سرعت جذب CO_2 ، افزایش میزان تعرق و افزایش هدایت روزنه‌ای می‌باشد. همچنین طی مراحل سازگاری، تیمار ۳ درصد ساکارز در مقایسه با سایر تیمارها از نظر تعداد برگ، ارتفاع شاخساره باززایی شده، تعداد و طول ریشه پاسخ رشدی مناسب‌تری را ایجاد نمود (جو و همکاران، 2009). در پژوهش حاضر نیز گیاهچه‌های تحت تیمار ساکارز با غلظت ۳ درصد، از لحاظ ارتفاع و وزن خشک گیاهچه، تعداد و طول ریشه میانگین‌های بالاتری را به خود اختصاص دادند. در واقع حضور ساکارز در محیط کشت، به‌عنوان منبع تأمین‌کننده کربوهیدرات، انرژی موردنیاز جهت رشد و آغاز ریشه را فراهم نموده که به‌دنبال آن افزایش جذب عناصر غذایی به‌دلیل افزایش سطح جذب توسط ریشه‌های گیاه اتفاق می‌افتد و در نتیجه وزن خشک گیاهچه‌ها به‌دلیل تجمع ماده خشک افزایش می‌یابد.

در پژوهش انجام شده توسط راناشینگ و همکاران (2006) بر روی گیاه ژربرا، مشخص گردید که با افزایش غلظت ساکارز از صفر به ۸ درصد، طول ریشه و میزان رشد ریشه به‌طور پیوسته افزایش یافت. بیش‌ترین تعداد برگ و طویل‌ترین شاخه‌ها نیز در غلظت ۳ درصد ساکارز حاصل شد و با افزایش غلظت ساکارز، میزان رشد شاخساره‌ها کاهش یافت. نتایج مطالعه مارتینز^۱ و همکاران (2015) نیز نشان داد که غلظت بالای ساکارز (۴۵ و ۶۰ گرم در لیتر) باعث افزایش تعداد ریشه تولیدی در گیاه بلبرجیا گردید و گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت فاقد ساکارز، ارتفاع بیش‌تری داشتند. در پژوهش حاضر نیز کاربرد ساکارز در محیط کشت تأثیر بسیار مطلوبی بر اکثر پارامترهای رشدی مورد ارزیابی داشت و گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت حاوی ساکارز در مقایسه با محیط کشت فاقد ساکارز، وزن خشک بیش‌تری را به خود اختصاص دادند و از لحاظ میزان رشد ریشه، ریشه‌های قوی‌تری را تولید نمودند، درحالی‌که در محیط کشت فاقد ساکارز، هیچ‌گونه ریشه ثانویه تولید نگردید.

در بسیاری از گیاهان، به‌دلیل تولید اکسین در ساقه‌های جوان، نیازی به افزودن این هورمون به محیط کشت نیست و استفاده از این هورمون در محیط کشت ریشه‌زایی سبب القاء تولید بافت کالوس می‌شود (طالبی و همکاران، ۱۳۹۱). تحقیقات نشان می‌دهد ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژربرا در محیط کشت فاقد هورمون اکسین نیز امکان‌پذیر می‌باشد (کانستان تینوویسی و ساند^۲، 1995؛ پوساد^۳ و همکاران،

(1999). محققانی نظیر اولیورا^۴ و همکاران (2000) و غیور کریمیانی (۱۳۸۹) برای ریشه‌دار کردن شاخساره‌های ژربرا از محیط کشت MS فاقد هورمون استفاده کردند، که با نتایج پژوهش حاضر از لحاظ عدم کاربرد هورمون در محیط کشت مطابق می‌باشد. از سوی دیگر، ترکیب مواد معدنی موجود در محیط کشت و غلظت عناصر نیز بر فرایند ریشه‌زایی تأثیرگذار می‌باشد (کاردوسا و داسیلوا^۵، 2013). فنگ^۵ و همکاران (2009) محیط کشت MS ½ حاوی ۰/۲ میلی‌گرم در لیتر هورمون NAA را به‌عنوان بهترین محیط ریشه‌زایی ژربرا عنوان نمودند. کاردوسا و داسیلوا (2012) از محیط کشت MS ½ حاوی ۳۵ گرم در لیتر ساکارز و غلظت بسیار پایین IBA (۰/۰۵ میلی گرم در لیتر) برای ریشه‌زایی و طویل شدن شاخساره‌های ژربرا استفاده کردند. باروز^۶ و همکاران (2005)، کاربرد غلظت پایین اکسین در محیط کشت و همچنین روش غوطه‌وری سریع در غلظت بالای اکسین و سپس کشت در محیط کشت فاقد هورمون را برای توسعه ریشه در گیاه گل‌ابی پیشنهاد نمودند، درحالی‌که سعادت^۷ و همکاران (2012)، برای تحریک تولید ریشه در گیاه مذکور، استعمال کوتاه‌مدت غلظت بالای اکسین در شرایط درون شیشه‌ای (۵۰ میلی‌گرم در لیتر IBA به‌مدت ۲۴ ساعت) و سپس به‌منظور توسعه ریشه، کشت گیاهچه‌ها در بستر کشت فاقد هورمون را توصیه نمودند. رودریگز^۸ و همکاران (1991) جهت ریشه‌زایی گیاهچه‌های گل‌ابی در شرایط کشت درون شیشه‌ای، از روش غوطه‌وری انتهای ساقه در محلول ۵ میکرومولار IBA به‌مدت یک دقیقه استفاده کردند. در پژوهش حاضر گیاهچه‌های کشت بافتی در محیط کشت پایه MS ½ بدون هورمون، ریشه‌زایی مطلوبی را از خود نشان دادند. به نظر می‌رسد گیاه ژربرا دارای پتانسیل ریشه‌زایی بالایی می‌باشد، به‌طوری‌که در محیط کشت بدون هورمون اکسین نیز به‌راحتی ریشه تولید می‌نماید. احتمالاً این گیاه با برخورداری از اکسین درونی بالا به‌راحتی قادر به تولید ریشه در محیط کشت فاقد هورمون ریشه‌زایی می‌باشد.

نوع نمک محیط کشت نیز ازجمله عواملی است که می‌تواند میزان رشد و ریشه دهی گیاهچه‌های کشت بافتی را تحت تأثیر قرار دهد. تحقیقات نشان می‌دهد که در برخی از گیاهان، با کاهش غلظت نمک محیط کشت ریشه‌دهی بهتری صورت می‌گیرد. در برخی از موارد نیز کاهش غلظت نمک محیط کشت نیاز به اکسین جهت ریشه‌زایی را مرتفع می‌سازد

4. Olivera
5. Feng
6. Barros
7. Saadat
8. Rodriguez

1. Martins
2. Constantinovici and Sandu
3. Posada

همکاران، ۲۰۱۵). در پژوهش حاضر نیز گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت White، از لحاظ تعداد و طول ریشه اصلی میانگین‌های بالاتری را به خود اختصاص دادند ولی باین حال تعداد ریشه ثانویه کم‌تری را تولید نموده بودند. به‌طور کلی، گیاهچه‌های رشد یافته در محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ ، در مقایسه با محیط کشت White، وزن خشک بیش‌تری را به خود اختصاص دادند. از آنجایی که افزایش تعداد ریشه ثانویه نقش بسیار مؤثری در جذب عناصر غذایی توسط گیاه دارد، لذا می‌توان این‌گونه استنباط کرد که افزایش وزن خشک گیاهچه‌های ژربرا در محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ می‌تواند به دلیل افزایش سطح جذب عناصر غذایی توسط ریشه‌های ثانویه گیاه باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج نشان داد در شرایط عدم حضور ساکارز، تعداد ریشه اصلی و ثانویه به شدت کاهش یافت و گیاهچه‌های تولید شده، وزن کم‌تری را به خود اختصاص دادند. همچنین گیاهچه‌های تولید شده در محیط کشت فاقد ساکارز دارای ریشه‌های کوتاه‌تری بودند و کاربرد ساکارز در محیط کشت باعث افزایش بیش از $\frac{2}{5}$ برابری طول ریشه تولید شده گردید. در محیط-کشت MS $\frac{1}{2}$ حاوی ساکارز و فاقد ترکیب هورمونی، بیش‌ترین تعداد ریشه ثانویه و وزن خشک گیاهچه تولیدی حاصل شد و تعداد ریشه اصلی قابل قبولی را نیز تولید نمود. با این حال، از لحاظ پارامترهای رشدی ذکر شده، اختلاف معنی‌داری با محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ حاوی ساکارز و اسید جیبرلیک نداشت. لذا جهت تکثیر تجاری، به‌منظور کاهش هزینه‌های تولیدی، کاربرد محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ حاوی ساکارز و فاقد هورمون جهت ریشه‌زایی گیاه ژربرا توصیه می‌گردد.

(ورما، ۲۰۱۲). سوسا و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند با کاهش ۲۵ درصدی غلظت نمک‌های محیط کشت MS، میزان ریشه‌زایی گیاهچه‌های ژربرا رقم Ornela افزایش یافت. پوسادا و همکاران (۱۹۹۹) نیز تأثیر مطلوب کاهش غلظت نمک‌های MS بر ریشه‌زایی را گزارش نمودند و بهترین نتیجه را در محیط کشت MS-H $\frac{1}{2}$ بدون هورمون مشاهده نمودند. فوجی و شیمیزو^۱ (۱۹۹۰) گزارش کردند که شاخساره‌های داوودی ریشه‌زایی مطلوبی را در محیط کشت MS فاقد هورمون از خود نشان دادند. ورما (۲۰۱۲) جهت سازگار نمودن گیاهچه‌های کشت بافتی داوودی از محیط کشت MS $\frac{1}{2}$ مایع فاقد تنظیم‌کننده رشد، ساکارز و کلسیم استفاده نمود. در واقع کاهش غلظت نمک‌ها در محیط کشت MS به‌خصوص در رابطه با عناصر پرمصرف نظیر پتاسیم در طی مرحله ریشه‌زایی، از تجمع کمپلکس‌های نمک در سلول‌های محافظ روزنه جلوگیری می‌کند. لذا هنگامی که گیاه به شرایط سازگاری انتقال می‌یابد، به دلیل کاهش از دست رفتن آب از طریق سلول‌های روزنه، مقدار رطوبت برگ در حد مطلوب باقی می‌ماند و درصد سازگاری گیاهچه‌های کشت بافتی افزایش می‌یابد (پرساد^۲، ۱۹۹۵).

از سوی دیگر، برخی محققان گزارش نمودند که غلظت نمک‌های محیط کشت MS بر ریشه‌زایی رقم Appelbloesem تأثیری ندارد (باربوزا^۳ و همکاران، ۱۹۹۴)، که نشان می‌دهد علاوه بر غلظت عناصر محیط کشت، عوامل دیگری از جمله ژنوتیپ نیز می‌تواند تأثیرگذار باشد. در مطالعه انجام شده بر روی گیاهچه‌های عدسک آبی، تأثیر نوع و غلظت نمک محیط کشت مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که ریشه‌های تولید شده در محیط کشت White نسبت به محیط کشت‌های MS و B₅، طولی‌تر بودند (هاریکروشنا^۴ و

منابع

- پیریک، آر. ال. ام. ۱۳۷۶. مبانی کشت بافت گیاهی. ترجمه باقری، ع. و صفاری، م. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۴۲۴ صفحه.
- غیور کریمیانی، ز. باقری، ع.، جعفرخانی کرمانی، م. و داوری نژاد، غ. ۱۳۸۹. بررسی اثر غلظت‌های متفاوت تیدیاورون و کینتین بر باززایی و پرآوری ژربرا رقم رداکسیپلوژن. علوم باغبانی، ۲۴ (۲): ۱۷۴-۱۷۰.
- شریفی، ا.، مشتاقی، ن. و باقری، ع. ۱۳۸۹. کشت بافت گیاهی کاربردی. چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۴۸۰ صفحه.
- طالبی، م.، اعتصام، ف.، سید طباطبایی، ب. و خاکسار، غ. ۱۳۹۱. استفاده از ریزنمونه‌های گره و ترکیبات مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد در باززایی مستقیم پروانش (*Catharanthus roseus* L.). علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای، ۳ (۱۰): ۵۵-۶۴.
- Abou Rayya, M. S., Kassim, N. E. and Ali, E. A. M. 2011. Effect of different cytokinins concentrations and carbon sources on shoot proliferation of bitter Almond nodal cuttings. Journal of American Science, 7 (1): 135-139.

1. Fujii and Shimizu
2. Prasad
3. Barbosa
4. Harikrushna

- Barbosa, M. H. P., Pinto, J. F. B. P., Pinto, C.A.B.P. and Innecco, R. 1994. *In vitro* propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus ex Hook cv. Appelbloesem using young capitulum. *Revista Ceres*, 41: 386-95.
- Barros, M. T. F., Hipolito, C. I. and Baptisa, C. G. M. 2005. *In vitro* rooting of Portuguese pear cultivars (*Pyrus communis*) in response to changes in auxin induction and dark period treatments. *Acta Horticulturae*, 671: 631-636.
- Bhat, M.S., 1990. Studies on *in vivo* propagation techniques in rose (*Rosa hybrida* L.) Ph. D (Doctoral dissertation, thesis submitted to PG School, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi).
- Brassard, N., Brissette, L., Lord, D. and Laliberté, S. 1996. Elongation, rooting and acclimatization of micropropagated shoots from mature material of hybrid larch. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 44 (1): 37-44.
- Cardoso, J. C. and da Silva, J. A. T. 2013. *Gerbera* micropropagation. *Biotechnology advances*, 31 (8): 1344-1357.
- Cardoso, J. C. and Teixeira da Silva, J. A. 2012. Micropropagation of *Gerbera* using chlorine dioxide (ClO₂) to sterilize the culture medium. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 48: 362-8.
- Carnerio, R.G., Mazzafera, P., Ferraz, L.C.C., Muraoka, T. and Trivelin, P.C.O. 2002. Uptake and translocation of nitrogen, phosphorus and calcium in soybean infected with *Meloidogyne incognita* and *M. javanica*. *Fitopatologia Brasileira*, 27 (2): 141-150.
- Constantinovici, D. and Sandu, C. 1995. Studies on the regenerative capacity of different gerbera explants for effective *in vitro* multiplication. *Cercet Agronomice Moldova*, 3: 149-52.
- De Gyves, E. M., Royani, J. I. and Rugini, E. 2007. Efficient method of micropropagation and *in vitro* rooting of teak (*Tectona grandis* L.) focusing on large-scale industrial plantations. *Annals of forest science*, 64 (1): 73-78.
- 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., *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 177: 118-136.
- Feng, X., Lai, C. and Lai, Z. 2009. Optimization of micropropagation conditions in *Gerbera jamesonii*. *Subtropical Agriculture Research*, 4: 5-9.
- Fujii, Y. and Shimizu, K. 1990. Regeneration of plants from achenes and petals of *Chrysanthemum coccineum*. *Plant Cell Reports*, 8 (10): 625-627.
- Gerardo, M. 2002. *Gerbera* cultivation in greenhouse: Greenhouse and installation. 1st ed, Schreurs BV de Kwakel, The Netherlands.
- Harikrushna, P., Ramchandra, S. and Patel, D. P. K. 2015. Effect of different nutrient medium on growth of *lemna gibba* during *in vitro* culture. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 6 (4): 193-198.
- Huang, M., Ni, Y. Y. and Lin, M. H. 1987. The micropropagation of gerbera. *Acta Horticulturae Sinica*, 14: 125-128.
- Ji, A., Geng, X., Zhang, Y., Wu, G. 2011. Advances in somatic embryogenesis research of horticultural plants. *American Journal of Plant Sciences*, 2 (6): 727-732.
- Jo, E. A., Kumar Tewari, R., Hahn, E. J. and Paek, K. Y. 2009. *In vitro* sucrose concentration affects growth and acclimatization of *Alocasia amazonica* plantlets. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 96: 307-315.
- Kanwar, J. K. and Kumar, S. 2008. *In vitro* propagation of *Gerbera*- A Review. *Horticultural Sciences (Prague)*, 35: 35-44.
- Khalaj, M. A., Amiri, M. and Sindhu, S. S. 2011. Response of different growing media on the growth and yield of gerbera (*Gerbera jamesonii* L.) in hydroponic open system. *Indian Journal of Horticulture*, 68 (4): 583-586.
- Kumar, N. and Reddy, M. P. 2011. *In vitro* plant propagation: a review. *Journal of Forest and Environmental Science*, 27 (2): 61-72.
- Kumari, M. and Varghese, T. M. 2003. Efficient *in vitro* regeneration of plantlets from capitulum explant in chrysanthemum cultivars Miss Universe and Snow Ball. *Journal of Ornamental Horticulture*, 6 (4): 316-321.
- Maia, E., Beck, D., Poupet, A. and Bettachini, B. 1983. *In vitro* clonal propagation of *Gerbera jamesonii* Bolus. *Comptes Rendus des Seances de l'Academie des Sciences*, 296: 885-887.
- Martins, J. P. R., Pasqual, M., Martins, A. D. and Ribeira, S. F. 2015. Effects of salts and sucrose concentrations on *in vitro* propagation of *Billbergia zebrina* (Herbert) Lindley (*Bromeliaceae*). *Australian Journal of Crop Science*, 9 (1): 85-91.
- Morzadec, J. M. and Hourmant, A. 1997. *In vitro* rooting improvement of globe artichoke (cv. *Camus de Bretagne*) by GA3. *Scientia Horticulturae*, 72 (1): 59-62.
- Neumann, K. H., Kumar, A. and Imani, J. 2009. *Plant Cell and Tissue Culture-A Tool in Biotechnology: Basics and Application*. Springer Science & Business Media.
- Pierik, R. L. M. 1997. *In vitro* Culture of Higher Plants. Springer Science & Business Media.
- Posada, M., Ballesteros, N., Obando, W. and Angarita, A. 1999. Micropropagation of gerbera from floral buds. *Acta Horticulture*, 482: 329-31.
- Prasad, K. V. 1995. Studies on *in vitro* regeneration of roses (Doctoral dissertation, IARI, Division of Horticulture, New Delhi).
- Ranasinghe, R. A. T. D., Abayagunawardana, A. G. N. I., Hettiarachchi, H. I. D. D. and Eeswara, J. P. 2006. *In vitro* flower induction in gerbera. *Tropical Agricultural Research*, 18: 1-10.
- Rodriguez, R., Diaz-Sala, C., Cuozzo, L. and Ancora, G. 1991. Pear *in vitro* propagation using a double-phase culture system. *HortScience*, 26 (1): 62-64.
- Saadat, Y. A., Jokar, L. and Sayyah Jahromi, L. 2012. *In vitro* rooting of *Pyrus glabra* Boiss. microshoots. *Iranian Journal of Natural Resources Research*, 1 (1): 46-51.
- Sousa, C. M., Santos, R. P. and Miranda, R. M. 2006. Optimization of salts concentration of medium MS in the micropropagation of gerbera, var. Ornela. *Agronomia*, 40: 52-58.
- Verma, O. P., 2012. Standardization of auxin concentration for root induction in *Chrysanthemum morifolium*. *Advances in Applied Science Research*, 3 (3): 1449-1453.

Effects of Culture Medium Type, Sucrose and Growth Regulator Combination on Gerbera Plantlets Rooting *In Vitro*

Sharifi¹, A., Kharrazi^{2*}, M., Moradian³, M. and Khadem⁴, A.

Abstract

Gerbera is one of the most important cut flower and potted plant that normally propagated via tissue culture techniques. For the suitable adaptation of plantlets in tissue culture, having a strong rooting system is crucial. So, in this study the effect of culture medium type, sucrose and hormonal combination on rooting of Gerbera plantlets was investigated. Factorial experiment was conducted in a completely randomized design with 3 factors and 4 replications. Before culturing, plantlets were immersed in GA₃ (5 mg/l), GA₃ (2.5 mg/l) + IAA (5 mg/l) and distilled water for 5 minutes and after that, they were cultured in ½ MS or modified White media. Also, in order to investigate the effect of sucrose on rooting of explants, the concentrations of 0 (control) and 30 g/l sucrose were used in the culture media. At the end of the experiment, different traits were measured. Results showed that the produced plantlet in the non-sucrose medium had the shorter roots and the use of sucrose in the culture medium increased root length by more than 2.5 times. Also, in the absence of sucrose, the primary and secondary root number fell sharply and the weight of plantlet reduced. Hormon-free ½ MS medium containing 30 g/l sucrose led to the production of maximum secondary root number and dry weight as well as an acceptable number of main root. So, for *in vitro* rooting of gerbera plantlets, application of hormon-free ½ MS medium supplemented with sucrose is recommended.

Keywords: GA₃, Secondary root, Dry weight of plantlet, MS culture medium, White culture medium

1, 2, 3 and 4. Assistant Professors and Instructors, Department of Ornamental Plant Biotechnology, Iranian Academic Center for Education, Culture and Research, Khorasan Razavi, Mashhad, Iran

✉: Corresponding Author

Email: ma_kh230@yahoo.com