

مجله ایمنی زیستی

دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰

ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلاپول به منظور تولید

پدازه‌های مقاوم به فوزاریوم به وسیله مهندسی ژنتیک



[20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5](https://doi.org/10.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5)

پریسا کوباز*^۱، اشکانه کلانتری^۲، سمانه کرزور^۳ و محمد فتحی قره‌بابا^۱

۱- گروه فیزیولوژی گیاهی، پژوهشگاه بیوتکنولوژی کشاورزی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۲- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد، گروه زراعت دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ایران

۳- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه زنجان، ایران

pkoobaz@abrii.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۱۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۱۰

صفحه ۱۳۰-۱۰۱

چکیده

گلاپول از گیاهان شاخه بریده پرمصرف در ایران است و تکثیر آن از طریق پدازه انجام می‌شود. به دلیل طولانی بودن زمان تولید، پدازه‌ها اغلب وارداتی هستند. استفاده از روش ریزازدیادی در بسیاری از گیاهان با سرعت بخشیدن بیشتر به فاز تکثیر در مرحله اول توانسته است نقش زیادی در کاهش زمان و هزینه تکثیر داشته باشد. علاوه بر این، موجب یکنواختی محصول شده و از آلودگی خاک به واسطه واردات پدازه‌های آلوده جلوگیری می‌کند. در این مقاله مراحل کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه گلاپول جهت تولید پدازه‌های مقاوم به بیمارگر فوزاریوم از طریق انتقال ژن مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از قطعات مختلف جداکشت بخصوص پدازه و پداژک‌های کشت بافتی همراه با ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رشد حاوی اکسین کمتر و سیتوکینین بیشتر به صورت مستقیم و غیرمستقیم می‌تواند موجب تولید شاخساره، ریشه‌زایی و تولید پداژک شود. یکی از مهمترین مراحل، افزایش سایز پداژک با استفاده از شیشه‌های بزرگتر و میزان ساکارز بیشتر است که نقش موثری در ماندگاری پداژک در مراحل سازگاری تا بلوغ دارد. کاهش زمان سرمادهی با ترکیب جیبرلین، سرما و استفاده از خاک با ترکیب مناسب موجب کاهش زمان رسیدن پدازه به بلوغ و تولید پدازه مناسب برای تکمیل چرخه انتقال ژن می‌شود.

واژه‌های کلیدی: انتقال ژن، بلوغ، پداژک، کشت بافت، گلاپول.

مقدمه

۱۳۹۶ واردات پیاز گلابول به کشور حدود ۱۲۰ میلیارد تومان بوده است که علاوه بر خروج ارز از کشور موجب آلودگی خاک به انواع قارچ‌های خاکزی شده است (Ebadzadeh et al. 2017). اگرچه متاسفانه مستنداتی برای تعیین میزان آلودگی و نوع آلودگی در مبادی قانونی کشور وجود ندارد ولی وجود این آلودگی به خصوص در استان مرکزی (شهرهای محلات و خمین) موجب آلودگی خاک این مناطق شده که مستلزم صرف هزینه و وقت زیاد برای حذف این آلودگی است. قارچ فوزاریوم یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قارچی گلابول است که موجب خسارات زیادی در مزارع می‌شود (Nazerian et al. 2013).

استفاده از مهندسی ژنتیک امکان دست‌ورزی و انتقال ژن را از موجودی به موجود دیگر فراهم کرده و تولید گیاهان تراریخته یکی از مهمترین کاربردهای مهندسی ژنتیک است (Kumar Verma et al. 2018). فناوری کشت بافت ابزار است که برای مقاصد کاربردی و تحقیقاتی در دامنه وسیعی از پژوهش‌ها در مراحل مختلف نمو گیاهان از جمله ریزازدیادی برای مقاصد تجاری و تولید گیاهان تراریخته با صفات خاص تجاری و زراعی استفاده می‌شود (Loyola-Vargas and Ochoa-Alejo, 2018). با تکمیل چرخه رشد در شرایط

گلابول (*Gladiolus spp.*) بزرگترین جنس از تیره زنبق‌ها است. این جنس دارای گونه‌های متعددی است که برخی در درمان بیماری و اغلب به صورت زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. راحتی کشت، مشکلات کمتر نسبت به سایر گیاهان شاخه بریده و پیازی بودن، از دلایل محبوبیت گلابول در بازار گل ایران است که آن را جزء اولین گیاهان پیازی مورد استفاده زینتی قرار داده است. راحت‌ترین روش برای تکثیر بسیاری از گیاهان دارای پیاز یا پدازه تولید این اندام تکثیری است. به طور طبیعی هر ساله حداقل از هر پدازه، یک پدازه دختری و یک تا بیست پدازه تولید می‌شود ولی پدازه‌ها باید حداقل طی سه دوره رشد و سرماهی به سبب مناسب برای تولید گل تجاری برسند. بنابراین به روش مرسوم، راندمان افزایش این گل بسیار پایین است. به دلیل تقاضای زیاد برای استفاده از این گل و زمان طولانی ایجاد پدازه‌های جدید دارای پتانسیل تولید تجاری، هر ساله از کشورهای اروپایی (به خصوص هلند) پدازه گلابول به کشور وارد و در استان‌های تهران، مازندران، مرکزی و خوزستان که بیشترین سطح زیر کشت گل‌های شاخه بریده از جمله گلابول را دارند، کشت می‌شود. در سال

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلايول به منظور توليد پدازه‌های ..."

ترکیبات ضد عفونی کننده بی خطر موجب شده تا از آنها علاوه بر مصارف پزشکی و صنعتی در ضد عفونی بافت های گیاهی مختلف نیز استفاده شود. نانونقره در مهار آلودگی های داخلی پایه های هلو و بادام (Arab et al. 2014)، چمن (Taghizadeh and Solgi. 2014) و ژربرا (Fakhrfeshani et al. 2012) مورد استفاده قرار گرفته و توانسته است میزان آلودگی باکتریایی و قارچی را به شکل معنی داری در مقایسه با کلرید جیوه و هیپوکلریت سدیم کاهش دهد (Rai et al. 2009). استفاده از الکل (۷۰٪، هیپوکلریت سدیم با غلظت های مختلف (۳۰٪ و ۵۰٪) در زمان های مختلف (۲۰، ۱۰، ۳۰ دقیقه) و نانونقره می تواند نقش موثری در کاهش میزان آلودگی داشته باشد. نتایج استفاده از نانونقره پس از الکل و هیپوکلریت سدیم در کنترل آلودگی گلايول رقم pink نشان داد که میزان آلودگی در مقایسه با روش آب گرم بدون نانونقره به ۴۸٪ کاهش یافته است. در میان تیمارهای مورد استفاده، ۳۰ دقیقه استفاده از نانونقره، به عنوان بهترین تیمار شناخته شد. علاوه بر کنترل آلودگی، نانونقره هیچ گونه عوارض جانبی بر قطعات جدا کشت نداشت و مراحل بازرایی (جنین زایی روشی) به خوبی انجام شد (Koobaz and Mojtahedi, 2016).

کشت بافت از ابتدای مرحله انتخاب قطعه جدا کشت، بازرایی، سازگاری، شکست خواب و بلوغ می توان از ریزازدیادی تجاری به منظور عاری کردن نمونه ها از عوامل بیماری زا، تولید پایدار در طول سال، کیفیت بالا، تولید گیاهان یکسان ژنتیکی، انتقال ژن و سایر خصوصیات زراعی و باغبانی مطلوب بهره برد (Memon. 2012).

مراحل تولید پدازه های کشت بافتی

۱- ضد عفونی

ضد عفونی پدازه اولیه مهمترین مرحله در تولید پدازه های سالم است. برای این منظور از ترکیبات مختلفی استفاده شده است. تماس مستقیم پدازه با خاک و پوسته نازک آن موجب نفوذ آلودگی های باکتریایی و قارچی به پدازه می شود. استفاده از روش تیمار آب گرم به دلیل وجود مزایایی از جمله عدم وجود باقیمانده های ترکیبات شیمیایی و حذف برخی از بیمارگرها در مقیاس وسیع جهت ضد عفونی پیازها، غده ها و دانه ها استفاده می شود (Mojtahedi and Azadi, 2008). اما، تیمار آب گرم می تواند به گیاه میزبان آسیب برساند و یا حتی به نوعی موجب تحریک باکتری های درونی برای رشد بیشتر شود. در سال های اخیر استفاده از فناوری نانو در تولید

۲- روش باززایی مستقیم و غیر مستقیم

باززایی به دو روش مستقیم و غیرمستقیم می‌تواند موجب تولید پدازه شود. روش باززایی مستقیم روش سریع‌تری برای تولید گیاهان پیازی است اگرچه نرخ بازدهی به‌طور عمده بستگی به عوامل مختلفی مانند نوع قطعه جدا کشت، ترکیب محیط کشت، نوع و غلظت تنظیم‌کننده‌های رشد و ژنوتیپ گیاهی دارد. باززایی به روش غیرمستقیم از طریق تولید کالوس از قطعات جداکشت انجام می‌شود و بیشتر برای مطالعات انتقال ژن مورد استفاده قرار می‌گیرد.

۲-۱- انتخاب قطعه جداکشت

قطعات جداکشت مختلف از جمله نوک ساقه (Hussain et al., 2001)، جوانه‌های رأسی (Priyakumari and Sheela, 2005)، قاعده برگ (Prasad and Gupta, 2006)، مریستم (Aftab et al. 2008)، پدازه و پدازک و قطعاتی از گل‌آذین (Ziv and Lilien-Kipnis, 2000) برای باززایی در شرایط درون شیشه مورد آزمون قرار گرفته‌اند. قطعات مختلف جداکشت پاسخ‌های متفاوتی از نظر باززایی نشان می‌دهند. محققان دریافتند که در مرحله خوشه‌دهی بهترین قطعه جداکشت (explant) برای تولید شاخساره در رقم white

استفاده از قطعات گره‌ای در مراحل نمودی مختلف خوشه گل در مقایسه با مرحله باز شدن تک گل یا سه گل است. محیط کشت مناسب برای قطعات جدا کشت ذکر شده، MS (murashige and skoog) با ۴ میلی‌گرم BAP (banzyl amino purine) است. آنها همچنین از اندازه‌های مختلف پدازه استفاده و گزارش کردند که پدازک ۰/۶ گرمی بهترین سایز برای باززایی کارآمد شاخساره بر روی همین محیط در مقایسه با اندازه‌های ۰/۲ و ۰/۴ گرمی است (Hussain et al. 2001).

باززایی از برش‌های پدازک توسط محققان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج تحقیقات نشان داد که القاء بهتر باززایی از منطقه بالایی برش‌های پدازک در مقایسه با بخش قاعده‌ای و انتهای آنها حاصل شده است. همچنین تولید شاخساره از قطعه جداکشت نوک ساقه که به‌صورت وارونه در محیط کشت حاوی کایتینین (kinetin; Kin) قرار گرفته است به‌طور متوسط ۹۰٪ بود (Babu et al. 2000).

نتایج حاصل از بررسی قطعه جداکشت مریستم و پدازک نشان داد که پدازک منبع مناسب‌تری برای تولید شاخساره‌های چندگانه در مقایسه با مریستم است (Aftab et al. 2008). استفاده از قطعات مختلف جداکشت از پدازه و جوانه رأسی

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلابول به منظور تولید پدازه‌های ..."

اگرچه ایندول بوتیریک اسید (IBA) و ۲،۴-D همراه BA نیز در تعداد کمی از تحقیقات برای القای شاخساره مورد استفاده قرار گرفته است اما بر اساس نتایج مشخص شد که بنزیل آمینوپورین (BAP) از خواب جلوگیری و رشد شاخه را افزایش می‌دهد (Nhut et al. 2004).

توجه به ژنوتیپ گلابول برای غربال و انتخاب بهترین‌ها جهت رسیدن به باززایی حداکثری گیاهچه‌ها لازم است. کلانتری نشان داد استفاده از قطعات قاعده‌ای پدازه در محیط MS حاوی دو میلی‌گرم بر لیتر BAP همراه با ۰/۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA توانست بیشترین تعداد شاخساره (۱۴) را در رقم white ایجاد کند. در حالی که رقم rose superme در محیط حاوی دو میلی‌گرم بر لیتر BAP همراه با ۰/۲۵ میلی‌گرم بر لیتر NAA توانسته ۱۲ شاخساره تولید کند (Kalantari et al. 2020).

۲-۳- روش باززایی غیرمستقیم و ترکیبات مورد نیاز محرک رشد

گیاهان زینتی پیازی تک لپه هستند و در این گروه کالوس به طور عمده از بافت‌های مرستمی زنده مانند جنین، سطح قاعده ساقه یا نوک ساقه ایجاد می‌شود. اگرچه در گلابول ایجاد کالوس از

نشان داد بخش قاعدای و مرکزی پدازه بیشترین تعداد شاخساره و پداژک را تولید کرده است (kalantari et al. 2020).

همچنین استفاده از پداژک‌های کشت بافتی با قطر بیشتر از دو سانتی‌متر با ۱۰۰٪ باززایی می‌تواند نقش موثری در چرخه تولید مجدد کشت بافتی از پداژک‌ها بدون نیاز به پدازه جدید و احتمال آلودگی داشته باشد. به تازگی بهینه‌سازی مراحل مختلف کشت برای سازگاری، بلوغ و افزایش سایز پداژک در یک بازه ۸ ماهه انجام و به صورت دانش فنی گزارش شده است (Koobaz et al. 2021a).

۲-۲- ترکیب محیط کشت و تنظیم‌کننده‌های رشد در باززایی مستقیم

ترکیب محیط کشت مورد استفاده به طور کامل وابسته به رقم است و برای هر رقم باید بهینه شود (Aftab et al. 2008). نتایج بررسی محققان روی ارقام تجاری گلابول در محیط کشت با مقادیر مختلف محیط MS همراه با مقادیر بیشتری از سیتوکینین‌های موثر (مانند بنزیل آدنین (BA) و مقادیر کمتری از اکسین (نفتالن استیک اسید (NAA) موجب پرآوری ساقه‌های گلابول می‌شود (Arab et al. 2014).

محیط (سه غلظت ۰ و ۱ و ۲ میلی گرم در لیتر پیکلورام) به تنهایی و اثر متقابل دوتایی و سه تایی آنها بر تعداد کالوس های جنین زای حاصل از هر قطعه جداگشت تاثیر معنی داری داشت. همچنین، برش رأسی استوانه مرکزی در محیط MS همراه با ۲ میلی گرم پیکلورام در رقم ovatic توانست بیشترین تعداد کالوس جنین زا (۴۴ جنین) را ایجاد کند (Kalantari. 2018) (شکل ۱).

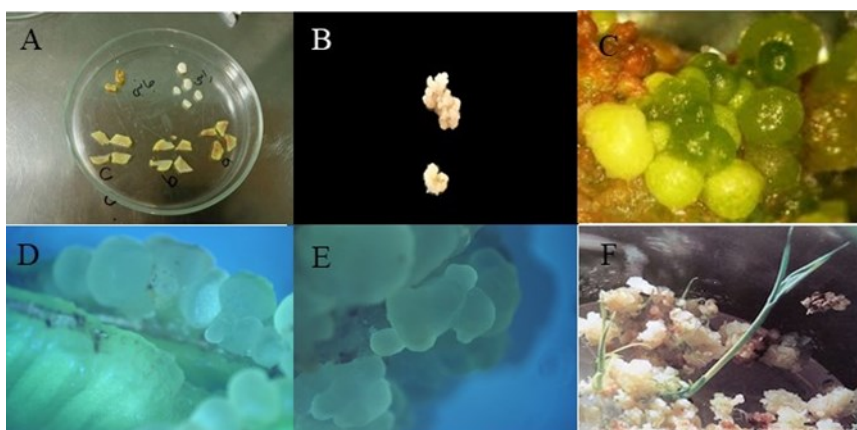
بر اساس نتایج موسوی متین و همکاران، استفاده از ۲۰۰ میلی گرم در لیتر از آمینو اسیدهای پرولین و گلوتامین با منشاء ارگانیک در ترکیب با تنظیم کننده های رشد شامل ۰/۵ میلی گرم در لیتر از جیبرلین (GA3) و یک میلی گرم در لیتر از تیدیاژرون (TDZ) نیز باعث بهبود کیفیت باززایی گلاپول شده است (Mousavimatin et al. 2020). کالوس های مناسب قطعات جداگشت مورد نیاز برای انتقال ژن هستند. تولید جنین سوماتیک از سلول های کالوس تراریخته موجب تولید گیاهی به طور کامل تراریخته شده و احتمال شیمر (shimmer) بودن آن وجود ندارد (Wu et al. 2015).

بافت های مختلف مانند بخش هایی از گل آذین، قطعات پدازک، نواحی انتهایی برگ، جوانه های جانبی و برش جوانه های پدازه نیز گزارش شده است (Kumar et al. 1999).

نوک ساقه پدازه به عنوان بهترین منبع برای ایجاد کالوس شناخته شده است. هورمون های مختلف مانند D-۲،۴ و NAA برای القاء کالوس در گلاپول به تنهایی و یا همراه با ترکیبات سیتوکینینی مانند BAP مورد استفاده قرار گرفته است (Goo et al. 2003).

برای بیشتر قطعات جداگشت، القاء کالوس و باززایی با استفاده از هورمون های ذکر شده و Kin گزارش شده است. القاء کالوس به طور کامل وابسته به ژنتیک است و در بین ارقام مورد آزمایش white prosperity و peter pears بهترین ارقام برای القای کالوس بر روی محیط کشت با استفاده از D-۲،۴ یا پیکلورام (picloram) شناخته شده اند (Aftab et al. 2008). نتایج بررسی محققان نشان داد که رقم (invitalie, chemistry, maxial, white prosperity, ovatic)، قطعه جداگشت (جوانه رأسی، جوانه جانبی و سه قسمت بالایی، میانی و انتهایی استوانه مرکزی) و

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلايول به منظور توليد پدازه‌های ..."



شکل ۱- مراحل توليد گیاهچه از قطعه جداکشت. A قطعات جداکشت مختلف، B کالوس توليد شده، C سلول‌های تغيير یافته برای توليد جنين، D و E مراحل توليد جنين، F گیاهچه حاصل از کالوس.

۳- ریشه‌زایی در شرایط کشت بافتی (*in vitro*)

ریشه‌زایی مناسب گیاهچه‌های کشت بافتی نقش موثری در سازگاری آنها دارد. ضعیف بودن گیاهان کشت بافتی توليد شده به طور معمول باعث ايجاد ریشه‌های ضعیف می‌شود. بنابراین کار اصلی انتقال گیاهان، تغيير در محیط کشت آنها به منظور تقویت ریشه‌زایی است. فاکتورهای مختلف مانند غلظت‌های کم یا به طور کامل محدود سیتوکینین‌ها و غلظت‌های بالای اکسین، غلظت کم عناصر معدنی، اضافه کردن سوکروز، افزایش زغال فعال و اضافه کردن ورمیکولیت به جای آگار در محیط برای ریشه‌زایی بهتر در کشت‌های درون شیشه گزارش شده است. نقش اکسین‌های مختلف برای ايجاد ریشه‌ها در ارقام مختلف گلايول و دیگر گیاهان پیازی مانند پیازچه‌های گل حسرت و نرگس نیز مورد مطالعه

قرار گرفته است (Tipirdamaz et al. 2003; Chow et al. 1992). بر اساس گزارش‌های منتشر شده استفاده از زغال فعال و سوکروز می‌تواند به شکل مثبت موجب تقویت ریشه‌زایی شود. زغال فعال می‌تواند دو نقش موثر داشته باشد یکی در جذب ترکیبات آلی به استثنای قندها و دیگری متوقف کردن ورود نور به محیط غذایی که موجب ايجاد شرایط مشابه با خاک در طبیعت می‌شود (Mousavimatin et al. 2020).

غلظت کم نمک‌ها نیز از ترکیبات موفق در ايجاد ریشه‌زایی است. با وجود آنکه القاء شاخه‌زایی نیاز به محیط MS کامل دارد کاهش غلظت نمک‌ها در این محیط به نصف یا یک چهارم برای ریشه‌زایی مناسب است. محققان ریشه‌زایی صد در صدی گلايول را در محیط حاوی MS ۱/۲ همراه با دو میلی‌گرم IBA، ۵ روز

طول برگ می‌شود. این مسئله می‌تواند به دلیل ناکارآمدی میزان فتوسنتز در کشت‌های درون شیشه باشد. محققان گزارش کردند که تشکیل پدازه در ۹۶ درصد شاخساره‌ها در محیط مایع حاوی ساکارز ۶ درصد حاصل می‌شود (Dantu et al. 1995).

استفاده از ممانعت کننده‌های رشد مانند پاکلوبوترازول (paclobutrazol) نقش مهمی در تشکیل پدازه گلابول در محیط درون شیشه بازی می‌کند. کاهش رشد شاخساره‌ها و تولید پدازک به دلیل حضور این ممانعت کننده‌های رشد به وسیله محققان مختلف گزارش شده است (Nagaraju et al. 2002). البته استفاده از تنظیم کننده‌های رشد سیتوکینینی مانند BAP و Kin نیز برای تشکیل پدازه‌ها مورد مطالعه محققان متعددی (در مقاله مروری) قرار گرفته است (Memon et al. 2016). میزان بقا در پدازه‌های بزرگتر از یک سانتی‌متر بیشتر است (Emek et al. 2007).

اندازه پدازه می‌تواند وزن گیاه، پهنای برگ، طول خوشه گل‌دهنده و تعداد سنبلیچه‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. طول خوشه گل‌دهنده در پدازه‌های کوچک بلندتر است در حالی که در بقیه صفات پدازه‌های بزرگتر خصوصیات بهتری را به خود

پس از تلقیح قطعات جداگشت برای انتقال ژن مقاومت به قارچ فوزاریوم گزارش کردند (Aftab et al. 2008). بر اساس نوع محیط کشت پدازک قبل از ریشه‌زایی یا به صورت همزمان تولید می‌شود. کلاتری نشان داد که رقم rose superme در محیط MS حاوی ۰/۲۵ NAA و ۰/۵ میلی‌گرم BAP بیشترین مقدار ریشه‌زایی (۱۲ ریشه) را داشت. اگرچه در محیط‌های حاوی MS ۱/۲ بدون وجود هورمون نیز ریشه‌زایی انجام شد. به همین منظور، برای صرفه اقتصادی، می‌توان از محیط بدون هورمون استفاده کرد (Kalantari. 2018).

۴- افزایش سایز پدازک

ساکارز نقش مهمی را در تشکیل پدازک گلابول بازی می‌کند. ساکارز موجب افزایش تعداد شاخساره‌ها، جنین‌زایی سوماتیکی و ریشه‌زایی می‌شود. افزایش رشد پدازک در محیط‌هایی با غلظت ۵۰ گرم در لیتر ساکارز مشاهده شده است. محیط مایع در مقایسه با محیط حاوی آگار با غلظت ساکارز بالاتر (غلظت ۶ درصد) باعث افزایش تعداد بیشتر پدازه‌ها می‌شود (Memon et al. 2013 ; Memon et al. 2010). البته افزایش بیش از ۶ درصد در غلظت ساکارز نقش مفیدی در افزایش سایز پدازه‌ها ندارد و تنها موجب افزایش

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلابول به منظور تولید پدازه‌های ..."

بزرگترین قطر پدازک (۲۴/۵ میلی‌متر) را تولید کرد (Koobaz et al. 2021a).

۵- سازگاری

در زمینه سازگاری در شرایط درون شیشه (*in vitro acclimatization*) و شرایط برون شیشه‌ای (*ex vitro acclimatization*) تحقیقات فراوانی در دنیا صورت گرفته است. به طور کلی برای ایجاد سازگاری گیاهان حاصل از کشت بافت در شرایط برون شیشه، ابتدا باید گیاهان را در شرایط درون شیشه‌ای سازگار کرد تا پس از انتقال به خاک، تعداد مناسبی از گیاهان با حداقل تلفات به گلخانه منتقل شوند. به طور معمول، سازگاری در شرایط درون شیشه‌ای، با اجرای دو مرحله کاهش مرحله به مرحله رطوبت نسبی در محیط کشت (Gonzalez Padilla et al. 2003) و تغییر در میزان محتوای قند بافت‌ها (Piqueras et al. 1998) انجام می‌شود. انجام این مراحل ضروری است چون این گیاهان هنوز اتوتروف نیستند و نمو کوتیکول برگ در آنها ضعیف بوده و عملکرد روزنه در آنها هنوز کامل نشده است (Hazarika. 2006; McCartan et al. 2004).

در گیاهان رشدیافته در محیط درون شیشه، کارایی فتوسنتزی کم و ارتباط آوندی بین ساقه و

اختصاص می‌دهند. همچنین پدازه‌های بزرگ تعداد بیشتری پدازک با وزن بیشتر ایجاد می‌کنند (Paek et al. 2002). غلظت بالای ساکاروز (۳ تا ۵٪) و یک میلی‌گرم در لیتر BAP توانسته است موجب افزایش سایز پدازک‌ها تا قطر بیشتر از دو سانتی‌متر شود (kalantari et al. 2020).

هوادهی بیشتر نیز از جمله عوامل موثر در افزایش سایز پدازک است و استفاده از شیشه‌های با سایز بزرگ برای کشت بافت به تولید پدازک‌های بزرگ کمک زیادی می‌کند. در شرایط طبیعی نیز پدازه‌ها هر سال یک پدازه دختری و ۱۵-۲۰ پدازک کوچکتر از یک سانتی‌متر (پدازه‌های بذری) و یک سانتی‌متری (پدازه‌های نخودی) تولید می‌کنند. پدازه‌های بذری اغلب از بین می‌روند و پدازه‌های نخودی حداقل ۳ تا ۴ دوره رشد و سرمادهی را باید طی کنند تا به سایز تجاری برسند که مقرون به صرفه نیست. پدازه‌های با قطر دو سانتی‌متر (پدازه‌های فندقی) با گذراندن دو دوره رشد می‌توانند به مرحله گل‌دهی برسند. لذا افزایش سایز اولیه نقش مهمی در کوتاه کردن مراحل رشد پدازه‌های با کیفیت مناسب دارد. استفاده از شیشه‌های سایز بزرگتر همراه محیط مایع MS حاوی ۶۰ گرم بر لیتر ساکارز، بیشترین تعداد پدازک (۱۲ عدد) و

برای گلابول گزارش‌های کمی درباره انتقال گیاهان رشدیافته در محیط کشت بافتی از باززایی مستقیم یا غیرمستقیم وجود دارد. انتقال به محیط خاک برای سازگاری از سال ۱۹۷۰ آغاز شده که موفقیت کمی به همراه داشته است. در سال ۲۰۰۵ محققان توانستند سازگاری موفقی از گیاهچه‌های گلابول را در بستری با نسبت ۲:۱ شن به خاک در گلدان‌های پلاستیکی گزارش کنند (Priyakumari and Sheela, 2005).

محیط‌های گلدانی از جمله مهمترین محیط‌هایی هستند که بقای گیاهچه‌های رشدیافته کشت بافتی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. استفاده از کودهای آلی مانند کود گیاهی چندمنظوره (gro green multipurpose compost) و لیف نارگیل (coconut coir) به دلیل حفظ رطوبت و دارا بودن منابع مس، روی، آهن، منگنز و پتاسیم نسبت به استفاده از محیط‌های حاوی هورمون رشد تاثیر بیشتری بر بلوغ پدازه‌ها دارد (Kapoor et al. 2008). همچنین استفاده از ترکیب خاک برگ، شن و تکه‌های آجر (۱:۱:۱) موجب سازگاری پدازه‌ها می‌شود (Dharmasena et al. 2011).

اطلاعات اندکی از مطالعات مربوط به سازگاری، بلوغ و شکست خواب به صورت مقاله علمی وجود دارد (این اطلاعات اغلب به صورت محرمانه

ریشه ضعیف است. این غیرطبیعی بودن در فیزیولوژی، مورفولوژی و آناتومی سازگار کردن آنها را در محیط خارجی سخت می‌کند. نتایج تحقیقات متعدد نشان داد کاهش ریزمغذی‌ها در محیط کشت، کاهش رطوبت نسبی از طریق افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی مانند اسید آبسزیک (Pospisilova, 1996)، پاکلوبوترازول (Ziv et al. 2000)، IBA یا BAP (Pospisilova et al. 1993) به محیط کشت یا کاهش پتانسیل اسمزی محیط با استفاده از پلی اتیلن گلیکول (PEG) (Dami and Hughes, 1997) و مواد مومی موجب عملکرد نرمال روزنه و رشد بهتر شده است.

سازگاری پدازه‌ها و انتقال آنها از محیط درون شیشه به محیط خارج برای انجام ریز ازدیادی موفق ضروری است. این فرایند برای گلابول در سه مرحله مختلف شامل زمان قبل از تشکیل پدازه، بعد از تشکیل پدازه و قبل از دورمانسی و پس از گذراندن دوره دورمانسی و زمان خشک شدن ساقه گیاه انجام می‌شود. معمولاً مرحله اول عملی‌تر است زیرا در این روش ابتدا شاخه‌های جوانه‌دار در محیط ریشه‌زایی کشت شده و سپس برای سازگاری در محیط‌هایی با رطوبت زیاد و دما و آبیاری کم قرار می‌گیرند (Memon. 2016).

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلايول به منظور توليد پدازه‌های ..."

درجه سلسیوس قرار گیرند. تعادل بین هورمون‌های جیبرلین و آبسزیک اسید نقش مهمی در شکستن خواب داشته و باعث افزایش تعداد بیشتری پدازه و پداژک با کیفیت در گلايول می‌شوند (Rashid. 2018). استفاده از هورمون جیبرلین موجب شکست خواب در مدت زمان کوتاهی پس از استفاده در پدازه‌های گلايول شده است. البته تاثیر جیبرلین می‌تواند به فاکتورهای مختلف وابسته به گیاه (گونه، رقم و مرحله فنولوژیکی)، محیط (نور، شرایط آب و هوایی و دوره رشد)، غلظت جیبرلین و نحوه به کارگیری آن مرتبط باشد (Taiz et al. 2013).

نتایج بررسی شکست خواب که با تیمار سرما در دمای ۴ درجه سلسیوس در ۳ زمان مختلف انجام شده بود حاکی از آن است که تیمار سرما به مدت ۲ ماه در هر دو رقم مورد مطالعه بهترین زمان برای شکستن دوره خواب است (Kalantari et al. 2020). اگرچه استفاده ترکیبی از جیبرلین و سرمادهی توانست با کاهش دوره سرمادهی به مدت یک ماه، پدازه‌ها را جهت فاز بعدی رشد آماده کند (Korzevar. 2020).

۷- انجام مراحل بلوغ

پس از شکست خواب، پداژک‌ها مجدداً در خاک کشت می‌شوند و مراحل رشد را تا زردشدن

نگهداری می‌شوند). کلانتری به منظور سازگاری آزمایشی انجام داد که طی آن ۷ رقم گلايول پس از سرمادهی در خاک‌هایی با ترکیب کوکوپیت و پیت ماس؛ پیت ماس، خاک مزرعه و ماسه و ترکیب برابر کوکوپیت، پیت ماس، خاک مزرعه و ماسه کشت شدند. نتایج نشان داد که بیشتر ارقام مورد مطالعه به خصوص رقم white prosperity در ترکیب خاک، پیت ماس، ماسه و خاک مزرعه بیشترین میزان رشد را داشتند (Kalantari. 2018).

۶- شکست خواب پداژک

یکی از فاکتورهای مهمی که بر تکثیر محصولات پیازی تاثیر می‌گذارد، کنترل خواب پیاز است. دوره خواب عامل بازدارنده بلوغ پدازه‌ها و در پی آن، عدم رشد مناسب آن‌ها تا رسیدن به اندازه مطلوب است، در عین حال، باعث می‌شود که گیاه قادر به تحمل شرایط نامناسب و استرس‌های محیطی باشد. دوره خواب در ارقام مختلف و همچنین در یک رقم هنگام رشد در شرایط مختلف متفاوت است (Paswan. 1985). در گلايول پداژک‌ها نسبت به پدازه‌ها خواب بیشتری دارند. مشکل دورمانسی در اغلب پیازی‌ها از جمله گلايول موجب می‌شود تا برای رفع آن، پداژک‌ها به مدت دو تا سه ماه در دمای ۲-۵

(سایز گردویی) نشاندهنده تجاری بودن آنها است. اگرچه ارقام مختلف اندازه‌های مختلفی دارند (Langens-Gerrits et al. 2003). تولید دانش فنی مرتبط با تکثیر ارقام تجاری می‌تواند در تولید پدازه‌های سالم تجاری، تولید پدازه‌های دارای تحمل به بیماری فوزاریومی از طریق انتقال ژن و تکمیل زنجیره تولید ارقام دارای رنگ‌های جدید با روش ایجاد جهش ژنتیکی نقش موثری داشته باشد (Azimi, 2019; Koobaz et al. 2021a) (شکل ۲).

برگ‌ها طی می‌کنند. سپس باید از خاک خارج شده و دوباره، مرحله شکست خواب را طی کنند. در این زمان می‌توانند در صورت شرایط نامناسب جهت کاشت ضدعفونی شده و به مدت طولانی در دمای ۲-۵ درجه سلسیوس انبارداری شوند. استفاده از کودهای مناسب و رعایت شرایط مناسب برای کاشت نیز می‌تواند موجب رشد بیشتر پدازه‌ها شود. حذف جوانه‌های گلدهنده احتمالی در برخی از پدازه‌های بزرگتر نیز ضروری است. رسیدن پدازه‌ها به قطر بیش از ۵ سانتی‌متر



۷- غربالگری پدازه‌ها و انتخاب سایز تجاری



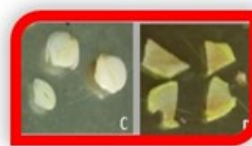
۶- گذراندن دوبار دوره رویشی



۵- سازگاری و رفع خواب در شرایط گلخانه



۴- استفاده از هورمون جهت افزایش وزن پدازک و رشد رویشی



۱- ضدعفونی و استفاده از قطعات مختلف پدازه‌ها



۲- بهینه‌سازی کشت بافت



۳- افزایش سایز

شکل ۲- مراحل تولید پدازه تجاری با استفاده از فناوری کشت بافت.

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلابول به منظور تولید پدازه‌های ..."

مطالعات مهندسی ژنتیک با هدف افزایش مقاومت

به بیماری پژمردگی فوزاریومی

در مراحل مختلف رشد گلابول تعدادی از بیمارگرهای باکتریایی، ویروسی و قارچی به آن حمله می‌کنند و به علت تکثیر رویشی متداول این آلودگی به نسل‌های بعد هم منتقل می‌شود (Azadi et al. 2016). از این بین، قارچ فوزاریوم بیشترین خسارت را به مزرعه آلوده وارد می‌کند. آلودگی بوسیله این قارچ (*Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*) تولید سالانه گلابول را ۶۰ تا ۱۰۰ درصد کاهش می‌دهد (Kamo et al. 2016). علائم این بیماری به صورت زردی برگ‌ها، بوته‌میری و پوسیدگی ساقه و پدازه است. در ایران برآورد دقیقی از میزان خسارت این بیماری در دست نیست و برای مبارزه با آن از قارچ‌کش (کاربندازیم، کربوکسین، بنومیل، باویستین، کالکسین، اسپاراتاک و کلروتالونیل) استفاده می‌شود (Nazerian et al. 2013).

استفاده مداوم از مواد شیمیایی اثرات زیست‌محیطی مخربی به همراه داشته و باعث برهم خوردن تعادل زیستی ریزجانداران خاک و حتی ایجاد حساسیت گیاه در مقابل آفات و بیماری‌های دیگر خواهد شد (Nhut et al. 2004). تولید گلابول تراریخته با هدف افزایش مقاومت

به بیماری قارچی پژمردگی فوزاریومی انجام شده است (Kamo et al. 2012; Kamo et al. 2009). به علت نبود سیستم کارآمد باززایی پس از انتقال ژن در ارقام مختلف گلابول و تک‌لپه‌ای بودن این گیاه، اغلب این مطالعات با استفاده از روش مستقیم به وسیله بمباران ژنی انجام شده است. محققان در آخرین مطالعه با انتقال ژن‌های کلروپروکسیداز باکتریایی و کیتیناز نشان دادند که انتقال ژن‌های یادشده موجب کاهش نفوذ قارچ فوزاریوم به ریشه پدازه‌های گلابول شد (Kamo et al. 2016). با توجه به احتمال موفقیت بیشتر در انتقال ژن با استفاده از باکتری *آگروباکتریوم* و هزینه کمتر، مطالعه با استفاده از سویه‌های مختلف این باکتری برای انتقال ژن نشانگر *Gus* انجام شد تا در صورت موفقیت برای انتقال ژن‌های اصلی نیز مورد استفاده قرار گیرد (Wu et al. 2015). هر چند تاکنون هیچ پدازه گلابول مقاوم به فوزاریومی با استفاده از روش انتقال ژن در دنیا به صورت تجاری تولید نشده است. علاوه بر طراحی و ساخت سازه مناسب، بهینه‌سازی مراحل مختلف باززایی، تولید پدازه، سازگاری و رفع خواب تا تولید پدازه بالغ نیز نقش کلیدی در موفقیت روند انتقال ژن دارد.

References

فهرست منابع

- Aftab F, Alam M, Afrasiab H. 2008. In vitro shoot multiplication and callus induction in *Gladiolus hybridus* Horticulture Pakistan Journal of Botany. 40(2): 517-522.
- Arab MM, Yadollahi A, Hosseini-Mazinani M, Bagheri S. 2014. Effects of antimicrobial activity of silver nanoparticles on in vitro establishment of G×N15 (hybrid of almond×peach) rootstock. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 12: 103-110.
- Azadi P, Bagheri H, Nalousi MA, Nazari F, Chandel SF. 2016. Current status and biotechnological advances in genetic engineering of ornamental plants. Biotechnology Advance. 34: 1073-1090.
- Azimi MH. 2019. Progeny Test of Crosses among Different Cultivars of *Gladiolus*. Journal of Plant Productions (Scientific Journal of Agriculture). 41(4): 29-44.
- Babu P, Chawla HS. 2000. In vitro regeneration of *Agrobacterium* mediated transformation in gladiolus. The Journal of Horticulture Science and Biotechnology. 75(4): 400-404.
- Chow YN, Selby C, Harvey BMR. 1992. Stimulation by sucrose of narcissus bulbil formation in vitro. Journal of Horticultural Science and Biotechnology. 67(2): 289-884.
- Dami I, Hughes HG. 1997. Effect of PEG- induced water stress on in vitro hardening of "Valiant" grape. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 47: 97-101.
- Dantu PK, and Bhojwani SS. 1995. In vitro corm formation and field evaluation of corm-derived plants. Scientia Horticulturae. 61(1): 115-12
- Dharmasena PAIU, Karunananda DP, Eeswara JP. 2011. Effect of gibberellic acid (ga3) and sugar on in vitro cormlet formation, multiplication and ex vitro sprouting of *Gladiolus hybrida* Variety Princess Lee. Tropical Agricultural Research. 23 (1): 1-10.
- Ebadzadeh H, Ahmadi K, Mohammad nya Afrouzi S, Abastaghanyr R, Abbasi M, Yavari S. 2017. Agriculture Statistics, Agriculture of jihad Ministry. 2: 25-28. (In Farsi with English abstract).
- Emek Y, Erdag B. 2007. In vitro propagation of *Gladiolus anatolicus* (Boiss.) Stapf. Pakistan Journal of Botany. 39(1): 23-30.
- Fakhrfeshani M, Bagheri A, Sharifi A. 2012. Disinfecting effects of nano silver fluids in *Gerbera (Gerbera jamesonii)* capitulum tissue culture. Journal of Biological Environment. 6(17): 121-127.
- Gonzalez A, Padilla IM, Webb K, Scorza R. 2003. Early antibiotic selection and efficient rooting and acclimatization improve the production of transgenic plum plants (*Prunus domestica* L.). Plant Cell Reports. 22: 38-45.
- Goo DH, Joung HY, Kim KW. 2003. Differentiation of gladiolus plantlets from callus and subsequent flowering. Acta Horticulturae. 620: 339-342.
- Hazarika BN. 2006. Morpho-physiological disorders in in vitro culture of plants. Scientia Horticulture. 108: 105-12
- Hussain I, Muhammad A, Rashid H, Quraishi A. 2001. In vitro multiplication of gladiolus (*Gladiolus crassifolius*). Plant Tissue Culture. 11: 121-126.
- Kalantari A, Rostami M, Koobaz P, Fathi Gharebaba M, Mojtahedi M. 2020. The effect of growth regulators, sucrose density and cold treatment on proliferation, cormlet produce and breaking dormancy in two gladiolus cultivars. Journal of Plant Process and Function 8(33):203-211. (In Farsi with English abstract).
- Kalantari A. 2018. Investigation of in vitro propagation conditions, adaptation and dormancy breaking in two commercial cultivars of *Gladiolus*. MSc thesis. Malayer University.Malayer.Iran. (In Farsi with English abstract).
- Kamo K, Aebig J, Guaragna MA, James, C, Hsu HT, Jordan R, 2012. *Gladiolus* plants transformed with single-chain variable fragment antibodies to cucumber mosaic virus. Plant Cell, Tissue Organ Culture. 110: 13-21.
- Kamo K, Joung YH, Green K, 2009. GUS expression in gladiolus plants controlled by two *Gladiolus* ubiquitin promoters. Floriculture and Ornamental Biotechnology. 3: 10-14.
- Kamo K, Lakshman D, Pandey R.2016. Resistance to *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* in transgenic *Gladiolus* plants expressing either a bacterial chloroperoxidase or fungal chitinase genes. Plant Cell Tissue and organ Culture. 124: 541-553.
- Kapoor R, Kumar S and Kanwar JK. 2008. Bulblet regeneration from ex vitro root plant in lily hybrids. Horticulture Science. 35(3): 107-112.
- Koobaz P, Fathi Ghare baba M, Shobbar Z, Mojtahedi N. 2021(a). Propagation, maturation and dormancy breaking to produce commercial matured corms in two gladiolus cultivars. Research Final Report. Agriculture,

"کوباز و همکاران، فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پدازه‌های گلابول به‌منظور تولید پدازه‌های ..."

Research, Education and Extension Organization. Agriculture Biotechnology Research Institute of Iran. Iran.58894 (In Farsi with English abstract).

Koobaz P, Kalantari A, Korzevar S, Fathi Ghare baba M.2021(b). Production of commercial adult corms in order to self-sufficiency and create new gladiolus cultivars. The 3rd International & 4th National Congress on Flower and Ornamental Plants. Ahwaz Iran.

Koobaz P, Mojtahedi N. 2016. Improvement of in vitro culture establishment of gladiolus corms using nanosilver. The first international and second national ornamental plants congress. Mashhad, Iran. (In Farsi with English abstract).

Korzevar S. 2020. Investigating the physiology and molecular effects of growth regulators on the breaking dormancy, maturity and flowering of tow gladiolus cultivars. MsC thesis. Zanjan University, Iran. (In Farsi with English abstract).

Kumar Verma R, Gaur R, Khurana SMP. 2018. Genetic Engineering of Horticultural Crops: Present and Future. DOI: 10.1016/B978-0-12-810439-2.00002-7.

Kumar, A, Sood A. Palni LMS, Gupta AK. 1999. In vitro propagation of gladiolus hybridus hort.: Synergistic effect of heat shock and sucrose on morphogenesis. Plant Cell Tissue and Organ Culture. 57(2): 105-112.

Langens-Gerrits M, De klerk GJ, Croes A. 2003. Phase change in lily bulblets regenerated in vitro. Physiologia Plantarum. 119: 590-597.

Loyola-Vargas VM, Ochoa-Alejo N. 2018. An introduction to plant tissue culture: Advances and perspectives. In V. M. Loyola-Vargas and N. Ochoa-Alejo [eds.], Plant cell culture protocols, 3–13. Humana Press, New York, New York, USA.

McCartan SA, Beckett RP, Ivanova V, Staden JV. 2004. In vitro hardening: the role of ventilation on acclimation stress in *Kniphofia leucocephala*. Plant Growth Regulation. 43: 49-55.

Memon N, Qasim M, Jaskani MJ, Khooharo AA, Hussain Z, Ahmad I. 2013. Comparison of various explants on the basis of efficient shoot regeneration in Gladiolus. Pakistan Journal of Botany. 45 (3): 877-885.

Memon N, Qasim M, Jaskani MJ, Ahmad R. 2010. In vitro cormel production of gladiolus. Pakistan Journal of Agricultural Sciences. 47: 115-123.

Memon N, Wahocho NA, Tanveer FM, Hussain ML. 2016. Propagation of Gladiolus corms and cormels: A review. African Journal of Biotechnology. 15(32): 1699-1710.

Mojtahedi N, Azadi P. 2008. Comparison of In vitro Bulblet Production in Two Commercial Liliium Cultivars, *Lilium longiflorum* cv. *Gironde* and *L. longiflorum* cv. *Cassandra*. Seed and Plant Journal 24 (4) 721-739. (In Farsi with English abstract).

Mousavimatin, SR, Mortazavi SN, Azadi P, Aelaei M .2021. Optimization of callus production and organogenesis of two commercial cultivars of Gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* L. cv Amsterdam, Advance Red), Journal of Plant Process and Function. 9(4): 49-59.

Nagaraju V, Bhowmik G, Parthasarathy VA. 2002. Effect of paclobutrazol and sucrose on in vitro cormel formation in gladiolus. Acta Botanica Croatica. 61(1): 27-33.

Nasir IA, Riazuddin S. 2008. New approaches to generate disease resistant gladiolus. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 24: 367-378.

Nazerian E, Najaf Abadi SS, Mahdavi M. 2013. Fusarium yellows disease of gladiola. Plant Pathology Science. 2(2): 18-29.

Nhut DT, Silva JAT, Huyen PX, Paek KY. 2004. The importance of explant source on regeneration and micropropagation of Gladiolus by liquid shake culture. Scientia Horticulturae. 102: 407–414.

Paek KY, Murthy HN. 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. Plant Cell and Tissue Organic Culture. 68: 247-252.

Paswan L. 1985. Studies on dormancy of gladiolus (Doctoral dissertation, Ph. D. Thesis, IARI, New Delhi, India).

Piqueras A, van Huylenbroeck JM, Han BH, Debergh PC. 1998. Carbohydrate partitioning and metabolism during acclimatization of micropropagated Calathea. Plant Growth Regulation. 26: 25–31.

Pospilisova J, Catsky J, Synkova H, Machachova I, Solarova J. 1993. Gas exchange and in vivo chlorophyll fluorescence in potato and tobacco plantlets in vitro as affected by various concentrations of 6-benzylaminopurine. Photosynthetica. 29: 1-12.

Pospilisova J. 1996. Hardening by abscisic acid of tobacco plantlets grown in vitro. Biologia Plantarum 38:605-609.

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

- Priyakumari I, Sheela VL. 2005.** Micropropagation of gladiolus cv. 'Peach Blossom' through enhanced release of axillary buds. *Journal of Tropical Agriculture*. 43(1-2): 47-50.
- Rai M, Yadav A, Gade A. 2009.** Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*. 27: 76-83.
- Rashid MH. 2018.** Influence of size and plant growth regulators on corm and cormel production of gladiolus (*Gladiolus grandiflorus* L.). *Progressive Agriculture*. 17: 29(2): 91-98.
- Taghizadeh M, Solgi M. 2014.** The application of essential oils and silver nanoparticles for sterilization of Bermudagrass explants in vitro culture. *International Journal of Horticultural Science and Technology*. 1(2): 131-140.
- Taiz L, Zeiger E, Maffei M. 2013.** *Fisiologia vegetable* Piccin; Springer.
- Tipirdamaz R. 2003.** Rooting and acclimatization of in vitro micropropagated snowdrop (*Galanthus ikariae* Baker) bulblets. *Akdeniz Univ Ziraat Fakultesi Dergisi*. 16: 121-126.
- Wu J, Liu C, Seng SS, Khan MA, Sui JJ, Gong BH. 2015.** Somatic embryogenesis and Agrobacterium-mediated transformation of *Gladiolus hybridus* cv. 'Advance Red'. *Plant Cell Tissue Organ Culture*. 120: 717-728.
- Ziv M, Lilien-Kipnis H. 2000.** Bud Re-generation from Inflorescence Explants for Rapid Propagation of Geophytes in Vitro. *Plant Cell Report*. 19: 845-850.

Tissue Culture Process, Adaptation and Maturation of Gladiolus Corms in order to Produce Fusarium Resistant Corms by Genetic Engineering

Parisa Koobaz^{1*}, Ashkaneh Kalantari², Sameneh Korzevar³, Mohammad Fathi Ghare baba¹

1- Plant Molecular Physiology Department, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

2- MSc. graduated of Department of Agriculture, Malayer University, Malayer, Iran.

3- MSc. graduated of Department of Science, Zanjan University, Zanjan, Iran.

pkoobaz@abrii.ac.ir

Abstract

Gladiolus is one of the most widely used cut flowers in Iran and mainly they were produced by corm, but due to the long production time to reproduce commercial corm, they are imported from the Netherlands to Iran. The use of the micropropagation method in many plants is effective to further accelerate the propagation phase in the first stage and play a major role in shortening the propagation time and cost by increasing uniformity and preventing soil contamination due to corm imports. In this article, the stages of tissue culture, adaptation and maturation of gladiolus corms in order to get the resistance to *Fusarium* sp. by gene transformation were mentioned. The use of different parts of the culture, especially corms and tissue culture cormels with a combination of growth regulators containing less auxin and more cytokinin can, directly and indirectly, cause shoot production, rooting and ultimately corm production. Using larger glasses and more sucrose in culture media have effective roles in the retention of the cormels in the stages of adaptation to maturation. Reducing the dormancy by combining gibberellin and cold and using the soil with the precise combination has shortened the time of maturity corms and produce a suitable corm with a commercial size to complete the gene transformation cycle.

Keywords: Corm, Gene Transformation, Gladiolus, Maturation, Tissue Culture.