مجله ایمنی زیستی
دوره ۱۴، شماره ۲، تابستان ۱۴۰۰
ISSN 2716-9804 الکترونیکی، ISSN 2717-0632 چاپی

فرآیند کشت بافت، سازگاری و بلوغ پداژه‌های گلایول به‌منظور تولید پداژه‌های مقاوم به فوزاریوم به‌وسیله مهندسی ژنتیک

20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5

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

گلایول از گیاهان شاخه بریده پرمصرف در ایران است و تکثیر آن از طریق پداژه انجام می‌شود. به‌دلیل طولانی بودن زمان تولید، پداژه‌ها 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. علاوه‌بر این، موجب یکنواختی محصول شده و از آلودگی خاک به واسطه واردات پداژه‌های آلوده جلوگیری می‌کند. در این مقاله مراحل کشت بافت، سازگاری و بلوغ پداژه گلایول جهت تولید پداژه‌های مقاوم به بیمارگر فوزاریوم از طریق انتقال ژن مورد بررسی قرار گرفته است. استفاده از قطعات مختلف جداکشت بخصوص پداژه و پداژک‌های کشت بافتی همراه با ترکیبی از تنظیم‌کننده‌های رشد حاوی اکسین کمتر و سیتوکنین بیشتر به‌صورت 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 پداژه به بلوغ و تولید پداژه مناسب برای تکمیل چرخه انتقال ژن می‌شود.

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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]
[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

مقدمه

گلایول (*Gladiolus* spp.) بزرگترین جنس از تیره زنبق‌ها است. این جنس دارای گونه‌های متعددی است که برخی در درمان بیماری و اغلب به‌صورت زینتی مورد استفاده قرار می‌گیرند. راحتی کشت، مشکلات کمتر نسبت به سایر گیاهان شاخه بریده و پیازی بودن، از دلایل محبوبیت گلایول 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 پداژه تولید این اندام تکثیری است. به طور طبیعی هر ساله حداقل از هر پداژه، یک پداژه دختری و یک تا بیست پداژک تولید می‌شود ولی پداژک‌ها باید حداقل طی سه دوره رشد و سرمادهی به سایز مناسب برای تولید گل تجاری برسند. بنابراین به روش مرسوم، راندمان افزایش این گل بسیار پایین است. به‌دلیل تقاضای زیاد برای استفاده از این گل و زمان طولانی ایجاد پداژه‌های جدید دارای پتانسیل تولید تجاری، هر ساله از کشورهای اروپایی (به‌خصوص هلند) پداژه گلایول به کشور وارد و در استان‌های تهران، مازندران، مرکزی و خوزستان که بیشترین سطح زیر کشت گل‌های شاخه بریده از جمله گلایول را دارند، کشت می‌شود. در سال ۱۳۹۶ واردات پیاز گلایول به کشور حدود ۱۲۰ میلیارد تومان بوده است که علاوه‌بر 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 به‌خصوص 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 گلایول 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 ابزاریست 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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

کشت بافت از ابتدای مرحله انتخاب قطعه جدا کشت، باززایی، سازگاری، شکست خواب و بلوغ می‌توان از ریزازدیادی تجاری به‌منظور عاری کردن نمونه‌ها از عوامل بیماری‌زا، 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 پداژک‌های کشت بافتی

۱- ضدعفونی

ضدعفونی پداژه اولیه مهمترین مرحله در تولید پداژه‌های سالم است. برای این منظور از ترکیبات مختلفی استفاده شده است. تماس مستقیم پداژه با خاک و پوسته نازک آن موجب نفوذ آلودگی‌های باکتریایی و قارچی به پداژه می‌شود. استفاده از روش تیمار آب گرم به‌دلیل وجود مزایایی از جمله عدم وجود باقیمانده‌های ترکیبات شیمیایی و حذف برخی از بیمارگرها در مقیاس وسیع جهت ضدعفونی پیازها، غده‌ها و دانه‌ها استفاده می‌شود (Mojtahedi and Azadi, 2008). اما، تیمار آب گرم می‌تواند به گیاه میزبان آسیب برساند و یا حتی به نوعی موجب تحریک باکتری‌های درونی برای رشد بیشتر شود. در سال‌های اخیر استفاده از فناوری نانو در تولید ترکیبات ضدعفونی‌کننده بی‌خطر موجب شده تا از آنها علاوه‌بر مصارف پزشکی و صنعتی در ضدعفونی بافت‌های گیاهی مختلف نیز استفاده شود. نانونقره در مهار آلودگی‌های داخلی پایه‌های 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 معنی‌داری در مقایسه با کلرید جیوه و هیپوکلریت سدیم کاهش دهد (Rai et al. 2009). استفاده از الکل ۷۰٪، هیپوکلریت سدیم با غلظت‌های مختلف (۳۰ ٪ و ۵۰٪) در زمان‌های مختلف (۱۰،۲۰ و ۳۰ دقیقه) و نانونقره می‌تواند نقش موثری در کاهش میزان آلودگی داشته باشد. نتایج استفاده از نانونقره پس از الکل و هیپوکلریت سدیم در کنترل آلودگی گلایول 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، به‌عنوان بهترین تیمار شناخته شد. علاوه‌برکنترل آلودگی، نانونقره هیچ‌گونه عوارض جانبی بر قطعات جداکشت نداشت و مراحل باززایی (جنین‌زایی رویشی) به خوبی انجام شد (Koobaz and Mojtahedi, 2016).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

۲- روش باززایی مستقیم و غیر مستقیم

باززایی به دو روش مستقیم و غیرمستقیم می‌تواند موجب تولید پداژه 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)، پداژه و پداژک 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 نموی 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 پداژه استفاده و گزارش کردند که پداژک ۰/۶ گرمی بهترین سایز برای باززایی کارآمد شاخساره بر روی همین محیط در مقایسه با اندازه‌های ۰/۲ و ۰/۴گرمی است (Hussain et al. 2001).

باززایی از برش‌های پداژک توسط محققان مورد بررسی قرار گرفت و نتایج تحقیقات نشان داد که القاء بهتر باززایی از منطقه بالایی برش‌های پداژک 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 کاینتین (kinetin; Kin) قرار گرفته است به طور متوسط ۹۰٪ بود (Babu et al. 2000).

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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

نشان داد بخش قاعدای و مرکزی پداژه 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 می تواند نقش موثری در چرخه تولید مجدد کشت بافتی از پداژک‌ها بدون نیاز به پداژهء جدید و احتمال آلودگی داشته باشد. به‌تازگی بهینه‌سازی مراحل مختلف کشت برای سازگاری، بلوغ و افزایش سایز پداژک در یک بازه ۸ ماهه انجام و به‌صورت 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 به‌طور کامل وابسته به رقم است و برای هر رقم باید بهینه شود (Aftab et al. 2008). نتایج بررسی محققان روی ارقام تجاری گلایول 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 گلایول می‌شود (Arab et al. 2014).

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

توجه به ژنوتیپ گلایول برای غربال و انتخاب بهترین‌ها جهت رسیدن به باززایی حداکثری گیاهچه‌ها لازم است. کلانتری نشان داد استفاده از قطعات قاعده‌ای پداژه 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 حالی‌که 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 به‌طور عمده از بافت‌های مریستمی زنده مانند جنین، سطح قاعده ساقه یا نوک ساقه ایجاد می‌شود. اگرچه در گلایول ایجاد کالوس از

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

بافت‌های مختلف مانند بخش‌هایی از گل آذین، قطعات پداژک، نواحی انتهای برگ، جوانه‌های جانبی و برش جوانه‌های پداژه نیز گزارش شده است (Kumar et al. 1999).

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

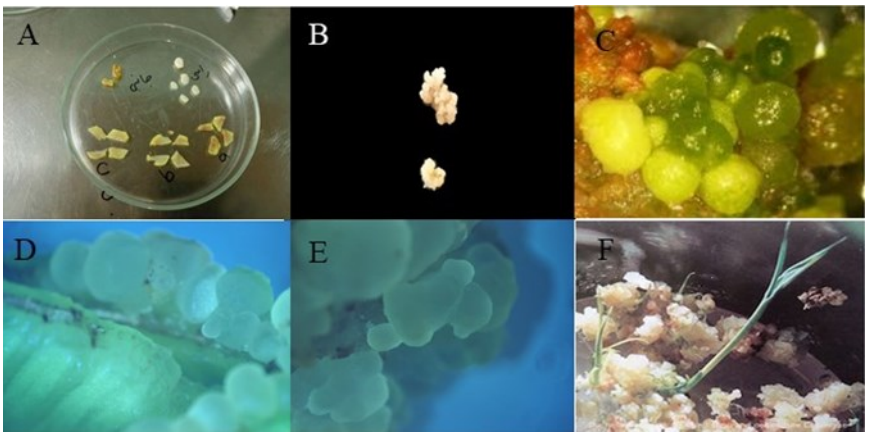
برای بیشتر قطعات جدا کشت، القاء کالوس و باززایی با استفاده از هورمون‌های ذکر شده و Kin گزارش شده است. القاء کالوس به‌طور کامل وابسته به ژنتیک است و در بین ارقام مورد آزمایش peter pears و white prosperity بهترین ارقام برای القای کالوس بر روی محیط کشت با استفاده از D-۲،۴ یا پیکلورام (picloram) شناخته شده‌اند (Aftab et al. 2008). نتایج بررسی محققان نشان داد که رقم (chemistry، invitalie، maxial، white prosperity و ovatie)، قطعه جداکشت (جوانه رأسی، جوانه جانبی و سه قسمت بالایی، میانی و انتهایی استوانه مرکزی) و محیط (سه غلظت ۰ و ۱و ۲ میلی‌گرم در لیتر پیکلورام) به تنهایی و اثر متقابل دوتایی و سه‌تایی آنها بر تعداد کالوس‌های جنین‌زای حاصل از هر قطعه جداکشت تاثیر معنی‌داری داشت. همچنین، برش رأسی استوانه مرکزی در محیط MS همراه با ۲میلی‌گرم پیکلورام در رقم ovatie توانست بیشترین تعداد کالوس جنین‌زا (۴۴ جنین) را ایجاد کند (Kalantari. 2018) (شکل ۱).

بر اساس نتایج موسوی متین و همکاران، استفاده از ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر از آمینواسیدهای پرولین و گلوتامین با منشاء ارگانیک در ترکیب با تنظیم‌کننده‌های رشد شامل ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر از جیبرلین (GA3) و یک میلی‌گرم در لیتر از تیدیازرون (TDZ) نیز باعث بهبود کیفیت باززایی گلایول شده است (Mousavimatin et al. 2020).

کالوس‌های مناسب قطعات جداکشت مورد نیاز برای انتقال ژن هستند. تولید جنین سوماتیک از سلول‌های کالوس تراریخته موجب تولید گیاهی به‌طور کامل تراریخته شده و احتمال شیمر (shimmer) بودن آن وجود ندارد (Wu et al. 2015).

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]



شکل ۱- مراحل تولید گیاهچه از قطعه جداکشت. A قطعات جداکشت مختلف، B کالوس تولید شده، C سلول‌های تغییر یافته برای تولید جنین، D و E مراحل تولید جنین، 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 تولید شده به‌طور معمول باعث ایجاد ریشه‌های ضعیف می‌شود. بنابراین کار اصلی انتقال گیاهان، تغییر در محیط کشت آنها به‌منظور تقویت ریشه‌زایی است. فاکتورهای مختلف مانند غلظت‌های کم یا به‌طور 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 ایجاد ریشه‌ها در ارقام مختلف گلایول 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 منتشرشده استفاده از زغال فعال و سوکروز می تواند 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 ایجاد شرایط مشابه با خاک در طبیعت می‌شود (Mousavimatin et al. 2020).

غلظت کم نمک‌ها نیز از ترکیبات موفق در ایجاد 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 گلایول را در محیط حاوی MS ۱/۲ همراه با دو میلی‌گرم IBA، ۵ روز

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

پس از تلقیح قطعات جداکشت برای انتقال ژن مقاومت به قارچ فوزاریوم گزارش کردند (Aftab et al. 2008). بر اساس نوع محیط کشت پداژک قبل از ریشه‌زایی یا به‌صورت همزمان تولید می شود. کلانتری 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 ۱/۲ MS 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 پداژک

ساکارز نقش مهمی را در تشکیل پداژک گلایول بازی می‌کند. ساکارز موجب افزایش تعداد شاخساره‌ها، جنین‌زایی سوماتیکی و ریشه‌زایی می‌شود. افزایش رشد پداژک 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 پداژه‌ها می‌شود (Memon et al. 2010 ; Memon et al. 2013). البته افزایش بیش از ۶ درصد در غلظت ساکارز نقش مفیدی در افزایش سایز پداژه‌ها ندارد و تنها موجب افزایش طول برگ می‌شود. این مسئله می‌تواند به‌دلیل ناکارآمدی میزان فتوسنتز در کشت‌های درون شیشه باشد. محققان گزارش کردند که تشکیل پداژه در ۹۶ درصد شاخساره‌ها در محیط مایع حاوی ساکارز ۶ درصد حاصل می شود (Dantu et al. 1995).

استفاده از ممانعت کننده‌های رشد مانند پاکلوبوترازول (paclobutrazol) نقش مهمی در تشکیل پداژه گلایول در محیط درون شیشه بازی می‌کند. کاهش رشد شاخساره‌ها و تولید پداژک به‌دلیل حضور این ممانعت کننده‌های رشد به وسیله محققان مختلف گزارش شده است (Nagaraju et al. 2002). البته استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد سیتوکنینی مانند BAP و Kin نیز برای تشکیل پداژه‌ها مورد مطالعه محققان متعددی (در مقاله مروری) قرار گرفته است (Memon et al. 2016). میزان بقا در پداژه‌های بزرگتر از یک سانتی‌متر بیشتر است (Emek et al. 2007).

اندازه پداژه می‌تواند وزن گیاه، پهنای برگ، طول خوشه گل‌دهنده و تعداد سنبلچه‌ها را تحت تاثیر قرار دهد. طول خوشه گل‌دهنده در پداژه‌های کوچک بلندتر است در حالی‌که در بقیه صفات پداژه‌های بزرگتر خصوصیات بهتری را به خود

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

اختصاص می‌دهند. همچنین پداژه‌های بزرگ تعداد بیشتری پداژک 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 پداژک‌ها تا قطر بیشتر از دو سانتی‌متر شود (kalantari et al. 2020).

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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

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 پداژه‌ها و انتقال آنها از محیط درون شیشه به محیط خارج برای انجام ریز ازدیادی موفق ضروری است. این فرایند برای گلایول در سه مرحله مختلف شامل زمان قبل از تشکیل پداژه، بعد از تشکیل پداژه و قبل از دورمانسی و پس از گذراندن دوره دورمانسی و زمان خشک شدن ساقه گیاه انجام می‌شود. معمولا 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).

برای گلایول 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 گلایول 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) به‌دلیل حفظ رطوبت و دارا بودن منابع مس، روی، آهن، منگنز و پتاسیم نسبت به استفاده از محیط‌های حاوی هورمون رشد تاثیر بیشتری بر بلوغ پداژه‌ها دارد (Kapoor et al. 2008). همچنین استفاده از ترکیب خاک‌برگ، شن و تکه‌های آجر (۱:۱:۱) موجب سازگاری پداژه‌ها می‌شود (Dharmasena et al. 2011).

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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

نگهداری می‌شوند). کلانتری به‌منظور سازگاری آزمایشی انجام داد که طی آن ۷ رقم گلایول 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 به‌خصوص 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 پداژه‌ها و در پی آن، عدم رشد مناسب آن‌ها تا رسیدن به اندازه مطلوب است، در عین‌حال، 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 گلایول پداژک‌ها نسبت به پداژه‌ها خواب بیشتری دارند. مشکل دورمانسی در اغلب پیازی‌ها از جمله گلایول موجب می‌شود تا برای رفع آن، پداژک‌ها به مدت دو تا سه ماه در دمای ۲-۵ درجه سلسیوس قرار گیرند. تعادل بین هورمون‌های جیبرلین و آبسیزیک اسید نقش مهمی در شکستن خواب داشته و باعث افزایش تعداد بیشتری پداژه و پداژک با کیفیت در گلایول می‌شوند (Rashid. 2018). استفاده از هورمون جیبرلین موجب شکست خواب در مدت زمان کوتاهی پس از استفاده در پداژه‌های گلایول 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، پداژه‌ها را جهت فاز بعدی رشد آماده کند (Korzevar. 2020).

۷- انجام مراحل بلوغ

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

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

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 پداژه‌ها شود. حذف جوانه‌های گلدهنده احتمالی در برخی از پداژه‌های بزرگتر نیز ضروری است. رسیدن پداژه‌ها به قطر بیش از ۵ سانتی‌متر (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 می تواند در تولید پداژه‌های سالم تجاری، تولید پداژه‌های 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) (شکل۲).

شکل۲- مراحل تولید پداژه تجاری با استفاده از فناوری کشت بافت.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

مطالعات مهندسی ژنتیک با هدف افزایش مقاومت به بیماری پژمردگی فوزاریومی

در مراحل مختلف رشد گلایول 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 گلایول را ۶۰ تا ۱۰۰ درصد کاهش می‌دهد (Kamo et al. 2016). علائم این بیماری به‌صورت زردی برگ‌ها، بوته‌میری و پوسیدگی ساقه و پداژه 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، اسپارتاک و کلروتالونیل) استفاده می شود (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 گلایول 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 گلایول و تک لپه‌ای 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 پداژک‌های گلایول شد (Kamo et al. 2016). با توجه به احتمال موفقیت بیشتر در انتقال ژن با استفاده از باکتری *اگروباکتریوم* 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 پداژه گلایول مقاوم به فوزاریومی با استفاده از روش انتقال ژن در دنیا به‌صورت تجاری تولید نشده است. علاوه‌بر طراحی و ساخت سازه مناسب، بهینه‌سازی مراحل مختلف باززایی، تولید پداژه، سازگاری و رفع خواب تا تولید پداژه بالغ نیز نقش کلیدی در موفقیت روند انتقال ژن دارد.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

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, Abbastaghanyr 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,

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

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 galdiolus 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 İ. 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 Lilium 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. Fusarum 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 exechange and in vivo chlorophyll fluorescense in potato and tobacco plantlets in vitro as affected by various concentrations of 6-benzylaminopourine. Photosynthetica. 29: 1-12.

Pospisilova 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.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]

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 mciropropagated 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 Kalantari[2], Sameneh Korzevar[3], Mohammad Fathi Ghare baba[1]

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.

[Downloaded from journalofbiosafety.ir on 2024-11-23]

[DOR: 20.1001.1.27170632.1400.14.2.6.5]