ریزازدیادی سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Mill.)

امید کریمی[۱] و بهزاد کاویانی[۲*]

۱- کارشناسی‌ارشد، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران،
omid.karimi@yahoo.com

۲*- دانشیار، گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، رشت، ایران، b.kaviani@yahoo.com

*نویسنده مسئول: بهزاد کاویانی

تاریخ دریافت: بهمن ۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: خرداد ۱۳۹۹

Micropropagation of Iranian cyclamen (*Cyclamen persicum* Mill.)

Omid Karimi[1] and Behzad Kaviani[2*]

1- MS.c, Department of Horticultural Science, Agriculture college, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran, omid.karimi@yahoo.com

2*-Associate Professor, Department of Horticultural Science, Agriculture college, Rasht Branch, Islamic Azad University, Rasht, Iran, b.kaviani@yahoo.com

*Corresponding author: Behzad Kaviani

Received: February 2020 Accepted: June 2020

چکیده

سیکلامن ایرانی (*Cyclamen persicum* Mill.) با داشتن رنگ‌های متنوع، مهم‌ترین و ارزشمندترین گونه گلدانی سیکلامن‌ها محسوب می‌شود. برای افزایش سرعت تکثیر این گیاه، بذرها به عنوان ریزنمونه‌ها در محیط کشت موراشیک و اسکوگ (MS) به همراه ترکیبی از غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم بر لیتر از هر دوی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی نفتالین استیک اسید (NAA) و ٦-بنزیل آدنین (BA) کشت شدند. نتایج نشان داد که بیشترین تعداد برگ (٦/٢٠ در هر گیاه) و بالاترین درصد جوانه‌زنی (۸۳/۵۰ درصد) در ریزنمونه‌های کشت‌شده در محیط حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمدند. بیشترین سطح برگ (با میانگین ١٦/٧٠ میلی‌متر) و بیشترین تعداد ریشه (٦/١٥ در هر گیاه) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده گردیدند. صفات طول برگ و طول ریشه نیز اندازه‌گیری شدند. تجزیه‌ی همبستگی صفات مورد مطالعه با یکدیگر نشان داد که بیشترین همبستگی بین تعداد برگ و تعداد ریشه دیده شد.

کلمات کلیدی: تکثیر درون‌شیشه‌ای، تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی، کشت بافت گیاهی، گیاهان زینتی.

Abstract

Iranian cyclamen (*Cyclamen persicum* Mill.) is the most important and valuable pot species of cyclamens because having variant colors. In order to increase the propagation rapidity of this plant, seeds as explants were cultured in MS medium along with a combination of 0, 0.5, 1, 1.5 and 2 mg/l concentrations of both plant growth regulators NAA and BA. Results showed that the most leaf number (6.20 per each plant) and the highest germination percentage (83.50%) were obtained in explants cultured in medium containing 1 mg/l BA together with 1 mg/l NAA. The most leaf surface (16.70 mm) and maximum root number (6.15 per each plant) were observed in treatment of 1.5 mg/l BA together with 1.5 mg/l NAA. Leaf and root length traits were also calculated. Correlation analysis of measured traits with each other showed that the most correlation was observed between leaf number and root number.

Keywords: *In vitro* propagation, Ornamental plants, Plant growth regulators, Plant tissue culture.

فصلنامه گیاه و زیست فناوری ایران
سال ۱۳۹۹، دوره ۱۵، شماره ۱، صص ٤١-٣٣

مقدمه و کلیات

سیکلامن یا نگونسار (*Cyclamen persicum* Mill.) گیاه ژوخه‌ای چندساله متعلق به خانواده‌ی Myrsinaceae (پامچال یا *Primulaceae* سابق) و دارای ۲۲ گونه می‌باشد (Grey-Wilson, 2003). گونه‌های سیکلامن، بومی نواحی مدیترانه‌ای و اروپای مرکزی می‌باشند (Niel, 2002) و در سراسر نواحی معتدله کشت می‌شود (Takamura, 2006). سیکلامن ایرانی یکی از مهم‌ترین محصولات زینتی است که به عنوان یک گل گلدانی گلدار برای تولید در زمستان در سراسر جهان به فروش می‌رسد (Ruffoni *et al*., 2000). این گیاه دارای ژنوتیپ‌های فراوان با گل‌های زیبا و رنگ‌های متنوع است که در قرن ۱۹ به عنوان یک گیاه تجاری مطرح شد. در بین آنها تنها گونه سیکلامن ایرانی به‌صورت تجاری گسترش یافت (Grey-Wilson, 2003). این گونه به صورت گیاه گلدانی به فروش می‌رسد و دارای رنگ‌های سفید، قرمز، زرد، صورتی و ارغوانی می‌باشد (Terakawa *et al*., 2008). در برخی کشورها از سیکلامن به عنوان یک گیاه شاخه بریده نیز استفاده می‌کنند (Winkelmann *et al*., 2010). این گیاه دارای غده است و در جنگل‌های شمال و شمال غرب ایران می‌روید. سیکلامن به دو روش جنسی (بذر) و غیر جنسی (غده) تکثیر می‌شود. سیکلامن ایرانی یک محصول زینتی محبوب است که نرخ تکثیر بالایی دارد (Rode *et al*., 2011). هزینه‌ی بالای تولید، استفاده از تکثیر درون‌شیشه‌ای را توجیه می‌کند. اگرچه این گونه زینتی به طور تجاری توسط بذر تکثیر می‌شود، کشت بافت و جنین‌زایی سوماتیک ابزارهای مهمی در اصلاح و تکثیر انبوه هستند. تکثیر سیکلامن توسط تقسیم‌کردن، قلمه‌زدن و پیوندزدن مشکل است (Bian *et al*., 2010). چند مطالعه روی ریزازدیادی سیکلامن طی اندام‌زایی و جنین‌زایی انجام شده است (Karam and Al-Majathoub, 2000b; Prange *et al*., 2010; Jalali *et al*., 2012; Kocak *et al*., 2014). در این مطالعات از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی BA، تیدیازورون (TDZ) و زآتین (Zt) برای شاخه‌زایی و از NAA، ۲، ٤- دی کلروفنوکسی استیک اسید (2,4-D) و ایندول بوتیریک اسید (IBA) برای ریشه‌زایی استفاده شده است (Mohannad and Karam, 2000; Karam and Al-Majathoub, 2000a; Jalali *et al*., 2010a,b; Kocak *et al*., 2014). ریزنمونه‌های مورد استفاده برای ریزازدیادی سیکلامن ایرانی؛ غده، برگ، دمبرگ، لپه، دمگل، گلبرگ و ریشه بودند (Mohannad and Karam, 2000; Seyring *et al*., 2009; Jalali *et al*., 2010a,b; Jalali *et al*., 2012). مطالعه کمی روی ریزازدیادی سیکلامن با استفاده از بذر انجام شده است. بنابراین، هدف از مطالعه حاضر اثر غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (BA و NAA) بر ریزازدیادی سیکلامن با استفاده از بذر بود.

فرآیند پژوهش

شرایط آزمایش: این تحقیق طی سال‌های ۱۳۹۵-۱۳۹٤ در موسسه‌ی تحقیقات بیوتکنولوژی و علوم کشاورزی هیرکان واقع در شهر آمل استان مازندران به مرحله‌ی اجرا در آمد.

طرح آزمایش: این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۲ فاکتور اصلی

(BA و NAA) و بررسی اثر متقابل این دو فاکتور در ۳ تکرار و هر کدام در ۵ سطح (صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر) و در کل در ۱۲۰ پلت آزمایشی اجرا شد.

ریزنمونه و ضدعفونی آن: در این آزمایش از بذر گیاه سیکلامن ایرانی به عنوان ریزنمونه استفاده گردید. ضدعفونی بذرها با ۲ گرم در لیتر قارچ‌کش بنومیل به مدت ۱۰ دقیقه آغاز شد. پس از آن، نمونه‌ها ۳ بار آبکشی شدند. ادامه ضدعفونی در محیط استریل دستگاه هود لامینار فلور انجام گرفت. ابتدا بذرها به مدت ٤٠ ثانیه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور گردیدند، پس از آن بلافاصله به مدت ۷ دقیقه در کلرید جیوه ۰/۵ درصد قرار داده شدند، و پس از ۳ بار آبکشی به‌مدت ۱۰ دقیقه در هیپوکلرید سدیم (وایتکس) ۱۵ درصد قرار گرفتند. در نهایت برای از بین بردن بقایای مواد شیمیایی در ۳ مرحله و هر بار به‌مدت ۵ دقیقه بذرها توسط آب استریل آبکشی شدند.

محیط کشت و تیمارها: ابتدا لازم است محیط کشت پایه تهیه شود. به این منظور، محیط کشت پایه‌ی MS (Mureshige and Skoog, 1962) آماده شد. محیط-های کشت با غلظت‌های صفر، ۰/۵، ۱، ۱/۵ و ۲ میلی‌گرم در لیتر از هر دوی NAA و BA (۲۵ تیمار) غنی شدند. اسیدیته (pH) محیط کشت قبل از اتوکلاو، برابر با ۵/۸–۵/٦، آگار ۰/۸–۰/۷ درصد و ساکارز ۳ درصد بود. محیط‌های کشت در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه‌ی سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر به‌مدت ۳۰ دقیقه ضدعفونی شدند.

شرایط نگهداری ریزنمونه‌ها: محیط‌های کشت حاوی ریزنمونه‌ها در اتاق رشد تحت فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۱ ± ٢٤ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۸۰–۷۵ درصد و جریان تراکم فتون فتوسنتزی ۵۰ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه نگهداری گردیدند.

صفات اندازه‌گیری‌شده: پس از حدود ۳۰ روز پارامترهایی مانند درصد جوانه‌زنی بذر، تعداد ریشه، طول ریشه، تعداد برگ، طول برگ و سطح برگ اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری صفات طولی اندام‌ها با خط‌کش انجام شد. تعداد اندام‌ها با چشم غیرمسلح شمارش گردید.

تجزیه‌ی داده‌ها: تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه دانکن در سطح احتمال ۵ و یک درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA روی صفات اندازه‌گیری‌شده:

طول برگ: با توجه به جدول تجزیه واریانس (جدول ۱)، تاثیر غلظت‌های مختلف NAA، BA و اثر متقابل این دو تنظیم‌کننده رشد بر طول برگ سیکلامن، به ترتیب در سطح احتمال ۵، یک و یک درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین ارائه‌شده در جداول ۲ تا ٤، بیشترین طول برگ (با میانگین ۹۳/۱۷ میلی‌متر) در محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد. البته تیمار حاوی ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر BA با میانگین

۹۳/۱۳ میلی‌متر اختلاف معناداری را با تیمار مذکور نشان نداد. کمترین طول برگ (با میانگین ٤٥/٤٧ میلی‌متر) تحت تاثیر محیط کشت حاوی ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA (فاقد BA) مشاهده شد، اگرچه تیمارهای شاهد (فاقد NAA و BA) و محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA (فاقد BA) و محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA (فاقد BA) اختلاف معنی‌داری را با تیمار کمترین طول برگ در اثر متقابل غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد NAA و BA نشان ندادند (جدول ٤).

تعداد برگ: نتایج ارائه‌شده در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) به‌منظور بررسی تاثیر جداگانه و ترکیبی دو هورمون NAA و BA بر تعداد برگ سیکلامن حاکی از آن است که غلظت‌های مختلف تنظیم‌کننده‌های رشد مذکور در سطح ۵ درصد معنی‌دار شده است. بیشترین تعداد برگ (٦/۲۰ در هر گیاه)، در محیط کشت حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA شمارش گردید (جدول ٤). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که در محیط‌های حاوی ۰/۵، ۰/۵، ۱/۵ و ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA، به ترتیب در ترکیب با ۰/۵، ۱/۵، ۰/۵ و ۱ میلی‌گرم در لیتر BA بیش از ۵ برگ تولید شد (جدول ٤). کمترین تعداد برگ در محیط‌های کشت فاقد BA و یا محیط-های غنی‌شده با بالاترین غلظت‌های BA و NAA به دست آمد. جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که بین اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA به تنهایی روی تعداد برگ، بیشترین تعداد برگ (۵/۱۱) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA القا شد.

سطح برگ: بالاترین سطح برگ (۱٦/۷۰ میلی‌متر در هر برگ)، در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA محاسبه گردید (جدول ٤). در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA سطح برگی برابر با ۱۵/۳٦ میلی‌متر به دست آمد. کمترین سطح برگ در محیط‌های کشت فاقد BA به دست آمد. داده‌های ارائه‌شده در جداول ۱ و ۲ نشان می‌دهد که چنانچه مقایسه‌ای بین اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA به تنهایی روی سطح برگ صورت گیرد مشخص خواهد شد که بالاترین سطح برگ (۱٤/۵٦ میلی‌متر) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA القا شد.

طول ریشه: جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که تاثیر غلظت‌های مختلف NAA، BA و اثر متقابل این دو تنظیم‌کننده رشد بر طول ریشه سیکلامن، به ترتیب در سطح احتمال ۵، یک و ۵ درصد معنی‌دار بود. با توجه به نتایج مقایسه میانگین ارائه‌شده در جدول ٤، بیشترین طول ریشه (با میانگین ۸۷/۱۰ میلی‌متر) در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA حاصل شد. تیمارهای حاوی ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA، همچنین ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA طول ریشه بیشتر از ۸۰ میلی‌متر را القا کردند. کمترین طول ریشه در گیاهان شاهد دیده شد (جدول ٤). داده‌های موجود در جداول ۱ و ۲ آشکار می‌کند که چنانچه مقایسه‌ای بین اثر غلظت‌های مختلف BA و NAA به تنهایی روی طول ریشه

صورت گیرد مشخص خواهد شد که بالاترین طول ریشه (۷۳/۵٤ میلی‌متر) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA القا شد.

تعداد ریشه: جدول ۱ نشان می‌دهد که تاثیر NAA به تنهایی و در ترکیب با BA به ترتیب بر تعداد ریشه سیکلامن در سطح ۵ و یک درصد معنی‌دار شده است. هورمون BA به تنهایی اثر معنی‌داری روی تعداد ریشه نداشت. جداول ۱ و ۲ آشکار می‌کنند که بین اثر غلظت-های مختلف BA و NAA به تنهایی روی تعداد ریشه، بیشترین تعداد (٤/۵۰) در تیمار ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA القا شد. بیشترین تعداد ریشه (٦/۱۵ در هر گیاه)، در محیط کشت حاوی ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱/۵ میلی‌گرم در لیتر BA به دست آمد (جدول ٤). کمترین تعداد ریشه (۲/۳۰ و ۲/٤۰) در محیط‌های کشت فاقد NAA به دست آمد.

درصد جوانه‌زنی: نتایج نشان داد که بیشترین درصد جوانه‌زنی (۸۳/۵۰ درصد) در بذرهای کشت‌شده در محیط‌های غنی‌شده با ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA همراه با ۱ میلی‌گرم در لیتر BA انجام شد (جدول ٤). جدول ۱ نشان می‌دهد که تاثیر BA به تنهایی و در ترکیب NAA به ترتیب بر درصد جوانه‌زنی بذر سیکلامن در سطوح ۵ و یک درصد معنی‌دار شده است. هورمون NAA به تنهایی اثر معنی‌داری روی این صفت نداشت. جدول بررسی همبستگی صفات مورد مطالعه با یکدیگر (جدول ۵) نشان داد که بیشترین همبستگی بین تعداد برگ و تعداد ریشه وجود دارد.

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA روی صفات اندازه‌گیری‌شده سیکلامن ایرانی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	طول برگ	سطح برگ	تعداد برگ	طول ریشه	تعداد ریشه	درصد جوانه‌زنی
NAA	٤	٤٤٧/٦*	۵/۲۹۲*	٦/۰۰*	٦۳۰/۳*	٤/۰۵*	٤۲/۰۰ns
BA	٤	۲۰۳٦/۹**	٦/۳۱۵*	٤/۷٦*	۹۷۸/۱**	۱/۷۷ns	۳۳۵/۳*
NAA × BA	۱٦	۱۱۱۵/۲**	۵/۰۷۸*	۷/۰۳۲*	٦٦٦/٦*	۱۲/۰۱**	٤۳٤/۵**
خطا	–	۱۸۳/۲	۱/۹۳	۱/۹۹	۲٤٦/٤	۱/٦۵۱	۱۱۷/۳
ضریب تغییرات (٪)	–	۱۷/۹۲	۱۰/۱۷	۳۳/٤۳	۲٤/۱۸	۳٤/٦۱	۱٦/۳۱

** و *: به ترتیب وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد، و ns: عدم وجود اختلاف معنی‌دار

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف NAA روی صفات اندازه‌گیری‌شده سیکلامن ایرانی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

		مقایسه میانگین					
NAA (میلی‌گرم بر لیتر)	طول برگ (میلی‌متر)	سطح برگ (میلی‌متر)	تعداد برگ	طول ریشه (میلی‌متر)	تعداد ریشه	درصد جوانه‌زنی
۰	٦۹/۸۰b	۱۳/٦۸ab	٤/۱۲b	۵۸/۲٤b	۳/۵٤b	٦۷/۳۳a
۰/۵	٦۹/۸۸b	۱۳/۸۰a	٤/۱۰b	٦۰/۲۰ab	۳/٦٦ab	٦۵/۳۳a
۱	۷۸/۳۹ab	۱۲/۷٤b	٤/٦۷a	٦۷/۳۲ab	۳/۳۷b	٦۷/۳۳a
۱/۵	۷۷/۵٦ab	۱۳/۹۰a	٤/۲۲b	۷۰/٤۹a	٤/۵۰a	٦۸/۰۰a
۲	۸۲/۰٤a	۱۳/۷٦ab	٤/۰۲c	٦۸/۲۵ab	۳/٤۹b	٦٤/۰۰a

حروف مشترک در هر ستون، عدم وجود اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف BA روی صفات اندازه‌گیری‌شده سیکلامن ایرانی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

		مقایسه میانگین					
BA (میلی‌گرم بر لیتر)	طول برگ (میلی‌متر)	سطح برگ (میلی‌متر)	تعداد برگ	طول ریشه (میلی‌متر)	تعداد ریشه	جوانه‌زنی (درصد)
۰	۵٦/۲۸c	۱۲/۷۸c	۳/۳۸b	۵۳/۳۲c	۳/۷۷a	٦۲/٦٦b
۰/۵	۸۰/٦۰ab	۱۳/۵۲abc	٤/٦۰a	٦٦/۸۸ab	۳/۲۵a	۷۱/۳۳a
۱	۸٦/۷٦a	۱۳/۵۷abc	٤/۳٦ab	۷۰/۲٦ab	۳/۹۳a	۷۰/٦٦a
۱/۵	۷۹/۸۸ab	۱٤/۵٦a	۵/۱۱a	۷۳/۵٤a	٤/۱۱a	٦٦/٦٦ab
۲	۷٤/۱٤b	۱۳/۹۵ab	۳/۹۷ab	٦۰/٤۸bc	۳/٤۹a	٦۰/٦٦b

حروف مشترک در هر ستون، عدم وجود اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد.

جدول ٤- مقایسه میانگین اثر غلظت‌های مختلف NAA و BA روی صفات اندازه‌گیری‌شده سیکلامن ایرانی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

				مقایسه میانگین		
جوانه‌زنی (درصد)	تعداد ریشه	طول ریشه (میلی‌متر)	تعداد برگ	سطح برگ (میلی‌متر)	طول برگ (میلی‌متر)	BA × NAA (میلی‌گرم بر لیتر)
٥٠/٠٠e	٣/٩٣abcd	٤٣/٦٧e	٣/٤٠cd	١٢/٤٠bcde	٥٩/٤٧vefg	٠ × ٠
٧٠/٠٠abcd	٤/٥٣abc	٥١/٩٠cde	٢/٦٦d	١٢/٧٠cde	٤٥/٤٧g	٠ × ٠/٥
٦٠/٠٠bcde	٢/٩٠cd	٥٢/١٣cde	٣/٤٣cd	١٢/١٦de	٥٧/١٠fg	٠ × ١
٥٦/٦٦cde	٤/١٦abcd	٥٦/٤٧cde	٣/٦٠bcd	١٢/٨٦cde	٥٦/١٧fg	٠ × ١/٥
٧٦/٦٦ab	٣/٣٣cd	٥٦/٤٨cde	٣/٢٣cd	١٢/٨٠cde	٦٣/٢٣defg	٠ × ٢
٧٠/٠٠abcd	٢/٣٠d	٥٩/١٠bcde	٣/٨٦cd	١٣/٧٦bcd	٦٦/٤٠cdefg	٠/٥ × ٠
٧٦/٦٦ab	٢/٩٠cd	٦٣/٠٣abcde	٥/١٦abc	١٤/٨٣abc	٦٦/٧١cdefg	٠/٥ × ٠/٥
٨٠/٠٠a	٣/٣٣cd	٦٥/٩٠abcde	٤/١٣abcd	١٣/٤٣cde	٩١/٣٠ab	٠/٥ × ١
٧٦/٦٦ab	٣/٥٠cd	٧١/٠٠abcd	٥/٨٠ab	١٣/١٣bcde	٨٤/٤٧abcd	٠/٥ × ١/٥
٥٣/٣٣de	٣/٧٣bcd	٧٥/٤٠abcd	٤/٨٣abcd	١٤/٤٣abcd	٩٤/١٣a	٠/٥ × ٢
٦٣/٣٣abcde	٢/٤٠d	٤٨/٩٧de	٤/٤٣abcd	١٢/٦٣cde	٧٩/٨٧abcde	١ × ٠
٦٠/٠٠bcde	٤/١٦abcd	٦١/٧٧abcde	٤/٤٦abcd	١٣/١٦bcde	٩٣/١٧a	١ × ٠/٥
٨٣/٥٠a	٣/٤٦cd	٨٤/٢٧ab	٦/٢٠a	١٣/١٦bcde	٨٦/٨٣abc	١ × ١
٧٦/٦٦ab	٥/٦٦ab	٨٧/١٠a	٤/٤٠abcd	١٥/٣٦ab	٨٤/٤٠abcd	١ × ١/٥
٧٣/٣٣abc	٣/٩٦abcd	٧٤/٢٠abcd	٤/٥٣abcd	١٣/٥٣bcde	٨٩/٥٧ab	١ × ٢
٨٠/٠٠a	٤/٠٠abcd	٦٣/٨٧abcde	٤/٥٤abcd	١٣/٨٦bcd	٧٢/٥٠abcdef	١/٥ × ٠
٥٠/٠٠e	٣/٠٦cd	٧٠/١٣abcde	٥/٠٦abc	١٤/٥٠abc	٧٤/٨٠abcdef	١/٥ × ٠/٥
٧٠/٠٠abcd	٤/٤٠abcd	٧٢/٦٣abcd	٥/٩٦ab	١٣/٣٣bcde	٨٤/٠٣abcd	١/٥ × ١
٧٦/٦٦ab	٦/١٥a	٨٤/٧٠ab	٤/٣٣abcd	١٦/٧٠a	٨٢/٣٣abcd	١/٥ × ١/٥
٥٦/٦٦cde	٣/٢٣cd	٧٦/٤٠abc	٤/١٦abcd	١٤/٤٠abcd	٨٥/٧٧abc	١/٥ × ٢
٧٣/٣٣abc	٤/٥٦abc	٧٤/٦٠abcd	٤/٣٦abcd	١٤/٧٣abc	٧٠/٧٧bcdef	٢ × ٠
٧٠/٠٠abcd	٣/٦٣bcd	٥٤/١٧cde	٤/١٦abcd	١٣/٨٠bcd	٦٩/٣٠bcdef	٢ × ٠/٥
٤٦/٦٦e	٢/٧٦cd	٦١/٦٧abcde	٤/٠٣abcd	١٣/٦٣bcde	٧٢/٧٠abcdef	٢ × ١
٥٣/٣٣de	٣/٣٠cd	٥٣/٢٠cde	٤/٠٠abcd	١٣/٩٣bcd	٨٠/٤٣abcde	٢ × ١/٥
٥٠/٠٠e	٣/٢٠cd	٥٨/٨٠bcde	٣/٣٣cd	١٣/٦٦bcde	٧٧/٥٠abcdef	٢ × ٢

حروف مشترک در هر ستون، عدم وجود اختلاف معنی‌دار را نشان می‌دهد.

جدول ٥- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری‌شده سیکلامن ایرانی در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای

صفات	طول برگ	تعداد برگ	سطح برگ	تعداد ریشه	طول ریشه	درصد جوانه‌زنی
طول برگ	١/٠٠					
تعداد برگ	٠/٢٤*	١/٠٠				
سطح برگ	٠/١٣	٠/٠١	١/٠٠			
تعداد ریشه	٠/١٩	٠/٢٩**	-٠/١٢	١/٠٠		
طول ریشه	٠/١٣	٠/٢٤*	٠/١٨	٠/٠٤	١/٠٠	
درصد جوانه‌زنی	٠/٠٦	٠/٠٨	٠/٠٦	٠/١٢	٠/٢٦*	١/٠٠

افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برون‌زای خارجی در غلظت‌های مناسب، تعداد برگ را در سیکلامن ایرانی کشت‌شده در محیط MS افزایش داد. وقتی که بذرها در محیط کشت حاوی هر دوی NAA و BA در غلظت مساوی (یک میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند، تعداد برگ‌ها در گیاهان تیمارشده حدود دو برابر گیاهان شاهد بود. بالاترین درصد جوانه‌زنی بذرها نیز در این محیط کشت مشاهده شد. هورمون BA کارایی بالاتری نسبت به NAA در تحریک تولید برگ داشت. ترکیب، غلظت و نسبت بین تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی برای تشکیل سرشاخه بسیار حائز اهمیت هستند. بررسی مقاله مروری که توسط نویسنده این مقاله منتشر شده است نشان می‌دهد که BA و NAA پرکاربردترین تنظیم‌کننده‌های

رشد گیاهی سیتوکینینی و اکسینی در ترکیب با یکدیگر برای مطالعات عمومی ریزازدیادی است. همچنین پرکاربردترین سیتوکینین برای شاخه‌زایی، BA است (Kaviani, 2015). ترکیب غلظت‌های مناسب NAA با BA، سطح متعادل هورمونی را برای شاخه‌زایی و ریشه‌زایی در کشت سیکلامن ایرانی ایجاد کرد. نسبت مناسب ترکیب هورمونی اکسین و سیتوکینین در محیط کشت برای القای تقسیم سلولی، تمایز سلولی، اندام‌زایی و در نهایت برای دستیابی به گیاه کامل موثر است (Ahmadloo *et al*., 2015). یافته‌های ما توسط برخی محققان در سیکلامن و بسیاری از گیاهان زینتی دیگر تایید شد. به عنوان مثال، مطالعه Mohannad and Karam (۲۰۰۰) روی ریزازدیادی سیکلامن با استفاده از سیتوکینین‌های BA، TDZ و Zt با ریزنمونه غده نشان داد که بالاترین درصد تشکیل شاخه و شاخه‌زایی در محیط کشت غنی‌شده با ۲ میلی‌گرم در لیتر BA به دست آمد. در مطالعه‌ی دیگر روی ریزازدیادی سیکلامن با استفاده از NAA، BA و TDZ و ریزنمونه‌های برگ و دمبرگ مشخص شد که بالاترین درصد شاخه‌زایی (۷٤ درصد)، در محیط کشت حاوی ۰/۰۲۲ میلی‌گرم در لیتر TDZ به دست آمد (Karam and Al-Majathoub, 2000b). این محققان بیان کردند که BA برای تحریک شاخه‌زایی در این ریزنمونه‌ها مناسب نیست. این یافته با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر مغایرت دارد. از طرف دیگر، با استفاده از ریزنمونه-های گلبرگ و دمگل، بالاترین شاخه‌زایی در محیط کشت غنی‌شده با ۰/۱ میلی‌گرم بر لیتر NAA همراه با ۰/۰۲۲ میلی‌گرم در لیتر TDZ به دست آمد. بنابراین، نوع ریزنمونه نقش بسیار موثری در موفقیت ریزازدیادی طی استفاده از تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی دارد. ریشه‌زایی مناسب در شرایط کشت درون‌شیشه‌ای نقش مهمی در رشد، نمو و سازگاری با شرایط برون‌شیشه‌ای گیاهان ریزازدیادی‌شده دارد. افزودن تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی در غلظت‌های مناسب، تعداد و طول ریشه را در سیکلامن ایرانی کشت‌شده در محیط MS افزایش داد. بذرهایی که در محیط کشت حاوی هر دوی NAA و BA در غلظت مساوی (۱/۵ میلی‌گرم در لیتر) کشت شدند، تعداد ریشه بیشتری نسبت به سایر تیمارها و شاهد تولید کردند. همچنین بیشترین طول ریشه در محیط ترکیبی به دست آمد. هورمون NAA کارایی بالاتری نسبت به BA در تحریک تولید ریشه و رشد آن داشت. پرکاربردترین تنظیم‌کننده‌ی رشد گیاهی اکسینی برای ریشه‌زایی، NAA است (Kaviani, 2015). همچنین پرکاربردترین سیتوکینین برای شاخه‌زایی، BA است (Kaviani, 2015). نتایج به دست آمده در این تحقیق با بسیاری از نتایج به دست آمده روی سیکلامن و بسیاری از گیاهان زینتی دیگر مطابقت دارد. به عنوان مثال، بررسی روی ریزازدیادی سیکلامن با استفاده از سیتوکینین‌ها و اکسین‌های IBA و NAA آشکار کرد که بالاترین درصد تشکیل ریشه در محیط کشت حاوی ۰/۵ یا یک میلی‌گرم در لیتر از هر یک از این دو هورمون به دست آمد (Mohannad and Karam, 2000). برخلاف نتایج بررسی‌های ما، این محققان نقش مثبت سیتوکینین‌ها در تحریک تولید و رشد ریشه‌ها را نشان ندادند. مطالعه‌ی Karam and Al-Majathoub (2000b) روی سیکلامن نشان داد که

غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر NAA موجب تشکیل بالاترین ریشه روی شاخساره گردید. مطالعات دیگر آشکار کردند که NAA در غلظت ۰/۱ تا ۲/۵ میلی-گرم در لیتر با یا بدون کینتین (Kin) ریشه‌زایی را تحریک کرد. ایندول، ۳-استیک اسید (IAA) در غلظت ۰/۱ تا ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر همراه با Kin تشکیل جوانه و در غلظت ۲/۵ میلی‌گرم در لیتر با یا بدون Kin تشکیل ریشه را تحریک کرد (Jalali *et al*., 2012). این نتایج نشان داد که اکسین‌ها در غلظت‌های بالاتر برای ریشه‌زایی بهینه ضروری هستند. Dillen و همکاران (۱۹۹۶) ریشه‌ها را روی شاخه‌های سیکلامن در محیط حاوی ایندول-۳-بوتیریک اسید (IBA) القا کردند.

منابع

1) Ahmadloo, F., M. Tabari Kouchaksaraei, P. Azadi, A. Hamidi and E. Beiramizadeh, 2015. The effect of plant growth regulators on shoot proliferation and rooting of *Crataegus pseudohetrophylla* Pojark. via *In vitro* culture. J. Crop Prod. Proc. 5 (17): 85–95.
2) Bian, F., C. Zheng, F. Qu, X. Gong and C. You, 2010. Proteomic analysis of somatic embryogenesis in *Cyclamen persicum* Mill. Plant Mol. Biol. Rep. 28: 22–31.
3) Dillen, W., I. Dijkstra and J. Oud, 1996. Shoot regeneration in long-term callus cultures derived from mature flowering plants of *Cyclamen persicum* Mill. Plant Cell Rep. 15: 545–548.
4) Grey-Wilson, C., 2003. *Cyclamen*: A Guide for Gardeners, Horticulturists and Botanists, New edition. Batsford, London.
5) Jalali, N., Naderi, R., Babalar, M., Mirmasoumi, M., 2010a. Somatic embryogenesisin Cyclamen with two explants and combinations of plant growth regulators.Hortic. Environ. Biotechnol. 51, 445–448.
6) Jalali, N., Naderi, R., Teixeira da Silva, J.A., Babalar, M., Mirmasoumi, M., 2010b.Influence of salt concentration ofg media and plant growth regulator combi-nation on callus formation and somatic embryogenesis of *Cyclamen persicum* Mill. Floricult. Ornamental Biotechnol. 4 (special issue 1), 84–87.
7) Jalali, N., R. Naderi, A. Shahi-Gharahlar and J.A. Teixeira da Silva, 2012. Tissue culture of *Cyclamen* spp. Sci. Hortic. 137 (1): 11–19.
8) Karam, N.S. and M. Al-Majathoub, 2000a. Direct shoot regeneration and microtuberization in wild *Cyclamen persicum* Mill. using seedling tissue. Sci. Hortic. 86: 235–246.
9) Karam, N.S. and M. Al-Majathoub, 2000b. In vitro shoot regeneration from mature tissue of wild *Cyclamen persicum* Mill. Sci. Hortic. 86: 323–333.
10) Karam, N.S. and M. Al-Majathoub, 2010. In vitro shoot regeneration from mature tissue of wild *Cyclamen persicum* Mill. Sci. Hortic. 86: 323–333.
11) Kaviani, B., 2015. Some useful information about micropropagation. J Ornamen Plants. 5 (1): 29–40.
12) Kocak, M., T. Izgu, B. Sevindik, M. Tutuncu, P. Curuk, O. Simsek, Y.A. Kacar, J.A. Teixeira da Silva and Y.Y. Mendi, 2014. Somatic embryogenesis of Turkish *Cyclamen persicum* Mill. Sci. Hortic. 172: 26–33.
13) Mohannad, A.M. and N.S. Karam, 2000. *In vitro* propagation of wild *Cyclamen persicum* Mill. from seedling tissue. Acta Hortic. 530: 243–252.
14) Murashige, T. and F. Skoog, 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473–479.
15) Neil, A., 2002. International Floriculture Issue. Minnesota Commercial Flower Growers Bulletin. 51 (2): 1–9.
16) Prange, A.N.S., M. Bartsch, M. Serek and T. Winkelmann, 2010. Regeneration of different *Cyclamen* species via somatic embryogenesis from callus, suspension

cultures and protoplasts. Sci. Hortic. 125: 442–450.

17) Rode, C., S. Gallien, D. Heintz, A. Van Dorsselaer, H.P. Braun and T. Winkelmann, 2011. Enolases: storage compounds in seeds? Evidence from a proteomic comparison of zygotic and somatic embryos of *Cyclamen persicum* Mill. Plant Mol. Biol. 75: 305–319.

18) Ruffoni, B., L. Semeria, P. Profumo and A. Bisio, 2000. *Cyclamen persicum* Mill. somatic embryos developed in suspension cultures: histological analysis and conversion to plants. Acta Hortic. 520: 83–90.

19) Seyring, M., Ewald, A., Muller, A., Haensch, K.T., 2009. Screening for propagation suitability *in vitro* of different *Cyclamen* species. Electron. J. Biotechnol. 12: 4–7.

20) Takamura, T., 2006. *Cyclamen*. In: Anderson, N.O. (Ed.), Flower Breeding and Genetics. Springer, Berlin, pp. 459–478.

21) Winkelmann, T., A. Ilczuk and S. Wartenberg, 2010. Micropropagation through somatic embryogenesis of *Cyclamen persicum* Mill. genotypes for cut flower production – feasibility study. Prop. Ornam. Plants, 10: 237–245.