

## اثر تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در باززایی مستقیم سوچه از ریزنمونه فلسی لاله واژگون

سعید حمیداوغلو<sup>۱</sup>، اسماعیل چمنی<sup>۲</sup>، یوسف حمیداوغلو<sup>۳\*</sup> و نگار طالعی<sup>۴</sup>

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۱۰/۱۰؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۵/۹)

### چکیده

لاله واژگون (Liliaceae) گیاهی تک‌لپه از خانواده *Fritillaria imperialis* است. علاوه بر گل زیبا از ارزش دارویی بالایی نیز برخوردار است و بهصورت وحشی در مناطقی از کشور ایران رشد می‌کند. بدلیل برداشت کنترل‌نشده گل و سوچه‌های این گیاه، بقای لاله واژگون در بسیاری مناطق ایران با تهدید روبرو شده است. این گیاه در شرایط مناسب حدود ۶ سال طول می‌کشد تا بتواند سوخته تولید کند که توانایی تشکیل گل را دارا باشد. به علاوه گیاهان حاصل از بذر بهدلیل دگر گرده افشاری گونه‌های *Fritillaria* شبیه والدین نخواهند بود. افزایش آنبوه لاله واژگون از طریق روش‌های مرسوم دیگر از قبیل کشت فلس از کارایی لازم برخوردار نبوده است. بنابراین با توجه به ضرورت حفظ و محافظت از آن در عرصه‌های طبیعی، از دیاد درون شیشه‌ای این گیاه مورد توجه قرار گرفت. در این پژوهش باززایی مستقیم سوچه از کشت فلس‌های گندزاده شده لاله واژگون در محیط پایه موراشیگ و اسکوگ در حضور تنظیم کننده‌های رشد IAA، TDZ، BA، Kinetin، NAA به طور جداگانه و ۴ ترکیب از Kinetin و NAA مورد بررسی قرار گرفت. بالاترین میزان باززایی مستقیم (۸/۳۳) عدد سوچه، بیشترین اندازه سوچه (۲۶ میلی‌متر) و بالاترین تعداد ریشه (۸ عدد) در ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA بدست آمدند. کمترین تولید سوچه در تیمارهای هورمون TDZ مشاهده شد زیرا در حضور TDZ، محدود سوچه‌های تشکیل شده به جای بزرگ شدن به سمت تولید کالوس تمایل داشتند. در تیمار BA باززایی صورت نگرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از دیاد درون شیشه‌ای گیاه لاله واژگون، با استفاده از ۲ میلی‌گرم هورمون NAA امکان‌پذیر می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** لاله واژگون، از دیاد درون شیشه‌ای، هورمون‌های رشد، فلس

۱ و ۲. به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه محقق اردبیلی

۳ و ۴. به ترتیب دانشیار و دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان

\*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: Hamidoghli@guilan.ac.ir

## مقدمه

دادند. بهترین شرایط برای تشکیل سوچه در تیمار تاریکی همراه با  $0/1$  میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید (NAA) در دمای  $20^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد گزارش شد.

شی او و همکاران (۱۵) تولید انبوه گونه *F. hupehensis* را با سه نوع ریزنمونه فلس، ساقه و برگ در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار دادند. بیشترین درصد بازیابی سوچه از ریزنمونه فلس و پس از آن بهترین ترتیب از ریزنمونه ساقه و برگ به دست آمد. همچنین  $4$  میلی گرم در لیتر NAA باعث افزایش کالوس‌دهی ریزنمونه و بهبود ریشه‌زایی سوچه‌های تشکیل شده گردید.

پاک کی و مورفی (۱۶) از کشت درون شیشه‌ای ریزنمونه‌های فلسی گونه *F. thunbergii* درصد بالای سوچه به دست آوردنده و این سوچه‌ها بعد از  $12$  هفته از کشت، تولید برگ و ریشه نمودند. به طور میانگین  $13/7$  سوچه از فلس در محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) همراه با  $0/3$  میلی گرم در لیتر NAA و  $1$  میلی گرم در لیتر کیتین (kin) به دست آمد. کشت‌هایی که در چرخه  $16$  ساعت روشناهی نور فلورستن ( $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )  $40$  و  $8$  ساعت تاریکی در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند، سوچه‌های مطلوب‌تری نسبت به کشت‌هایی که در تاریکی مطلق در دمای  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد نگهداری شدند، تولید کردند.

محمدی ده‌چشمی (۱۰) در پژوهشی با بررسی بازیابی غیرمستقیم از ریزنمونه‌های گلبرگ *F. imperialis*، محیط کشت B5 ( $4$ ) دارای  $0/1$  میلی گرم در لیتر بنزیل آمینو پورین (BAP)،  $0/6$  میلی گرم در لیتر NAA و  $0/4$  میلی گرم در لیتر ایندول استیک اسید (IAA) مناسب‌ترین تیمار برای تولید سوچه به تعداد  $5$  عدد به ازای هر ریزنمونه گزارش نمود.

مطالعات موجود در زمینه ریزازدیادی *F. imperialis* از طریق سوچه بسیار محدود است. با توجه به ارزش تجاری، دارویی و خطر انحرافی گیاه *F. imperialis* و همچنین مشکلات موجود در زمینه ازدیاد این گیاه از طریق بذر و تقسیم سوچ، هدف این پژوهش دستیابی به محیطی مناسب جهت

لاله واژگون (*Fritillaria* spp.) یکی از گیاهان موجود در خانواده Liliaceae است. این تیره شامل گیاهانی غالباً علفی، دارای پیاز و ریزوم می‌باشد (۶). لاله واژگون به دلیل زیبایی، بازارپسندی بالایی دارد و بازارهای کشورهای آمریکایی و اروپایی توجه خاصی به این گیاه نشان می‌دهند (۱). در مقیاس تجاری تنها  $2$  گونه لاله واژگون شامل *F. imperialis* و *F. meleagris* پرورش می‌یابند (۹). این گیاه از نظر دارویی نیز اهمیت فراوان دارد و آلالوئیدها و گلیکوزیدهای متعددی در این گیاه مشخص شده است. در ایران دو گونه *F. persica* و *F. imperialis* وجود دارد که براساس سیاست‌های سازمان حفاظت محیط زیست به عنوان ذخیره ژنتیکی و عنصر زیبایی شناختی قلمداد شده و نیاز به حفاظت دارند زیرا با توجه به پراکنش محدود و متراکم، چرای دام‌ها، جاده سازی، بوته کنی، برداشت گل و پیاز، به نظر می‌رسد بقای لاله واژگون در آینده با چالش روبرو گردد (۳).

لاله واژگون را می‌توان از طریق کاشت بذر و روش‌هایی از قبیل تقسیم سوچ و فلس‌برداری ازدیاد کرد. از زمان کشت بذر تا تولید سوچی که توانایی تشکیل گل را دارا باشد، حدود  $6$  سال زمان لازم است. با این حال در این روش ازدیاد به دلیل هتروزیگوت بودن والدین، نتایج شیبه به اصل نخواهد شد و به همین دلیل در مورد ارقام تحت کشت باید از طریق رویشی به وسیله تقسیم سوچ و فلس‌برداری اقدام کرد (۲). در مورد بعضی جنس‌ها مثل *Lilium* فلس‌برداری موفق است ولی در لاله واژگون به دلیل کم بودن تعداد فلس‌ها، محدودیت نقاط مریستمی وجود دارد (۱)، بنابراین افزایش انبوه لاله واژگون از طریق کشت درون شیشه‌ای قابل توجیه خواهد بود. علاوه بر این موفقیت در ازدیاد درون شیشه‌ای گیاه می‌تواند در پیشبرد برنامه‌های اصلاحی در جهت انتقال ژن‌های مفید از گونه‌های وحشی به گونه‌های تجاری بسیار مؤثر باشد. اوکاوا و کیتاجیما (۱۳) کشت درون شیشه‌ای *F. camtschatcensis* را در  $8$  هفته و در دمای  $15^{\circ}\text{C}$ ،  $20^{\circ}\text{C}$  و  $25^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی گراد مورد بررسی قرار

در صد گندزدایی شدند. سپس ۳ بار با آب مقطر استریل شستشو و جهت اطمینان از عدم آلودگی به مدت ۱ هفته به محیط کشت MS بدون هورمون منتقل شدند.

### تیمارها

جهت باززایی مستقیم سوچچه، ریزنمونه‌های عاری از آلودگی به محیط کشت MS دارای ۳۰ گرم در لیتر سوکروز، ۸ گرم در لیتر آگار و  $pH=5/8$  به همراه تنظیم کننده‌های رشد IAA (۱،۱)، TDZ (۰/۱،۰/۲) و ۴ میلی گرم در لیتر)، تیدیازورون (NAA) (۱،۱)، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر)، بنتزیل آدنین (BA) (۱،۱)، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر)، NAA (۱،۱)، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر) و چهار ترکیب هورمونی  $1mg/l kin + 1mg/l NAA + 1mg/l kin + 2mg/l NAA + 2mg/l kin + 1mg/l NAA$  و محیط کشت MS بدون هورمون به عنوان شاهد منتقل شدند. کشت‌ها در انکوباتور در دمای  $25^{\circ}C$  فتوپریود ۱۶ ساعت نور و ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS نسخه ۹/۱ در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۷ تکرار و ۳ نمونه در هر تکرار و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

### نتایج

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد گیاهی پس از ۸ هفته از کشت، بر باززایی مستقیم سوچچه، تعداد ریشه، اندازه سوچچه و وزن سوچچه لاله واژگون در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار است. باززایی مستقیم: بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف تنظیم کننده‌های رشد روی باززایی گیاه لاله واژگون نشان داد که بیشترین باززایی مستقیم (۸/۳۳) در تیمار ۲ میلی گرم در لیتر NAA تولید می‌شود (شکل ۱) که با تیمار ۱ (که با تیمار  $1mg/l kin + 2mg/l NAA$ ) اختلاف معنی دار نشان نداد. کمترین باززایی در تیمار شاهد مشاهده شد که با تیمارهای TDZ و



شکل ۱. سوچچه‌های تشکیل شده در تیمار ۲ میلی گرم در لیتر NAA

تولید سوچچه در محیط درون شیشه‌ای با استفاده از ریزنمونه‌های حاصل از سوچ است که می‌تواند علاوه بر ازدیاد انبوه، در جهت پیشبرد اهداف اصلاحی نیز مورد استفاده قرار گیرد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی

سوچهای *F. imperialis* مورد استفاده در این پژوهش در اوایل خرداد ماه از منطقه اقلید استان فارس جمع‌آوری شدند و به آزمایشگاه کشت بافت پارک علم و فناوری استان گیلان منتقل و به مدت دو ماه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جهت سپری شدن دوران رکود نگهداری شدند.

#### گندزدایی

ابتدا سوچ لاله واژگون با چاقو باز و تمامی قسمت‌های بیرونی و داخلی آن با آب و مایع ظرفشویی و هم‌چنین با مالش دادن ابر روی آنها به طور کامل شسته شدند. سپس نمونه‌ها در زیر هود استریل به مدت ۶۰ ثانیه در الکل ۷۰ درصد غوطه‌ور گردیدند و پس از آن به مدت ۲۰ دقیقه با هیپوکلریت سدیم ۱/۵

جدول ۱. مقایسه میانگین تیمارهای مختلف هورمونی روی باززایی مستقیم، قطر سوچه و تعداد ریشه در سوچه‌های *F. imperialis* تولید شده از کشت فلس گیاه

تیمار	شاهد	تعداد سوچه مستقیم	تعداد ریشه	قطر سوچه (میلی‌متر)	وزن سوچه (میلی‌گرم)
۱ میلی گرم در لیتر NAA	۱ ed*	۴/۳۳ <sup>b</sup>	۰ <sup>f</sup>	۴/۳۳ <sup>h</sup>	۷۰ <sup>ed</sup>
۲ میلی گرم در لیتر NAA	۴/۳۳ <sup>a</sup>	۹ <sup>egf</sup>	۵ <sup>b</sup>	۱۳۰ <sup>ed</sup>	۱۵۹ <sup>۰ a</sup>
۴ میلی گرم در لیتر NAA	۴/۳۳ <sup>a</sup>	۲۶ <sup>a</sup>	۸ <sup>a</sup>	۱۴ <sup>cd</sup>	۴۱ <sup>۰ cbd</sup>
۱ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ <sup>ed</sup>	۵ <sup>b</sup>	۵ <sup>b</sup>	۵/۳۳ <sup>hg</sup>	۸۱ <sup>ed</sup>
۲ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ <sup>ed</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۷ <sup>hgf</sup>	۱۱ <sup>۰ ed</sup>
۴ میلی گرم در لیتر IAA	۱/۳۳ <sup>ed</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۵ <sup>hgf</sup>	۱۰۰ <sup>ed</sup>
۱/۰ میلی گرم در لیتر TDZ	۱/۶۶ <sup>ced</sup>	۵ <sup>hg</sup>	۲ <sup>cfd</sup>	۵/۳۳ <sup>hg</sup>	۸۰ <sup>ed</sup>
۱/۰ میلی گرم در لیتر TDZ	۱ <sup>ed</sup>	۵/۳۳ <sup>hg</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۵/۳۳ <sup>hg</sup>	۹۰ <sup>ed</sup>
۰/۵ میلی گرم در لیتر TDZ	۰/۶۶ <sup>e</sup>	۳ <sup>hi</sup>	۰/۱۶۶ <sup>fe</sup>	۰ <sup>d</sup>	۴۰ <sup>ed</sup>
۱ میلی گرم در لیتر BA	۰ <sup>e</sup>	۰ <sup>i</sup>	۰ <sup>f</sup>	۰ <sup>d</sup>	۰ <sup>d</sup>
۲ میلی گرم در لیتر BA	۰ <sup>e</sup>	۰ <sup>i</sup>	۰ <sup>f</sup>	۰ <sup>d</sup>	۰ <sup>d</sup>
۴ میلی گرم در لیتر BA	۰ <sup>e</sup>	۰ <sup>i</sup>	۰ <sup>f</sup>	۱ <sup>ed</sup>	۲۱۰ <sup>ed</sup>
۱ میلی گرم در لیتر Kin	۳/۶۶ <sup>bc</sup>	۹ <sup>egf</sup>	۳ <sup>cbd</sup>	۱۷ <sup>cb</sup>	۶۴۰ <sup>cb</sup>
۲ میلی گرم در لیتر Kin	۴/۶۶ <sup>b</sup>	۱۰ <sup>edf</sup>	۱ <sup>fed</sup>	۱۰ <sup>edf</sup>	۲۷۰ <sup>ced</sup>
۱ mg/l kin + 1 mg/l NAA	۴/۶۶ <sup>b</sup>	۱۱/۳۳ <sup>ed</sup>	۲/۳۳ <sup>ced</sup>	۱۶/۳۳ <sup>cb</sup>	۲۰۰ <sup>ed</sup>
2 mg/l kin + 1 mg/l NAA	۴/۶۶ <sup>b</sup>	۱۶/۳۳ <sup>cb</sup>	۲/۳۳ <sup>ced</sup>	۲۰ <sup>b</sup>	۶۶ <sup>b</sup>
1 mg/l kin + 2 mg/l NAA	۷/۳۳ <sup>a</sup>	۷۳۰ <sup>b</sup>	۳/۳۳ <sup>cb</sup>	۱۶ <sup>cb</sup>	۷۳۰ <sup>b</sup>
2 mg/l kin + 2 mg/l NAA	۴/۶۶ <sup>b</sup>	۱/۳۳ <sup>cfd</sup>	۱/۳۳ <sup>cfed</sup>	۱۶ <sup>cb</sup>	۶۴۰ <sup>cb</sup>

\*: میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون در سطح ۵٪ آزمون توکی اختلاف معنی‌دار ندارند.

لیتر IAA، ۴ میلی‌گرم در لیتر kin + 2 mg/l NAA، kin + 2 mg/l NAA و تیمارهای گروه TDZ تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در تیمارهای شاهد، ۴ میلی‌گرم در لیتر IAA و غلط‌های مختلف ریشه‌زایی انجام نشد (جدول ۱).

IAA تفاوت معنی‌داری نداشت. در هیچ‌یک از تیمارهای دارای BA، سوچه‌ای تشکیل نشد (جدول ۱).

#### ریشه‌زایی

بیشترین تعداد ریشه (۸ عدد) در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد در حالی که کمترین تعداد ریشه در تیمار ۱ میلی‌گرم در لیتر IAA تولید شد که با تیمار ۲ میلی‌گرم در

اندازه و وزن سوچه بلندترین (۲۶ میلی‌متر) و سنگین‌ترین (۱/۵۹ گرم) سوچه پس

دست کم بخش‌هایی از بافت فلس بدون آلدگی بوده است. به همین دلیل می‌توان با حذف و گندزدایی مجدد (چند مرحله‌ای) ریزنمونه‌ها، جداکشت‌های سالمی را از بافت فلس به دست آورد.

براساس مطالعات انجام شده روی ریازادیادی گونه‌های مختلف *Fritilaria*، بیشترین تعداد سوچجه از ریزنمونه فلسی در گیاه *F. camschatcensi* در تیمار ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر NAA (۱۳)، در گونه *F. hupehensis* در تیمار ۴ میلی‌گرم در ۰/۳ لیتر NAA (۱۵) و در گونه *F. thunbergii* در تیمار ۰/۳ میلی‌گرم در لیتر NAA و ۱ میلی‌گرم در لیتر کیتین گزارش شده است. این تحقیقات نشان می‌دهند که بازبازی سوچجه در حضور تنظیم کننده‌های رشد گیاهی به‌ویژه *Fritillaria* افزایش پیدا کرده است. در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد NAA بیشترین بازبازی مستقیم و رشد را دارد به‌طوری‌که لیتر NAA بیشترین بازبازی مستقیم و رشد را دارد به‌طوری‌که بیشترین تعداد سوچجه در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA مشاهده شد، درحالی‌که در هر سه غلظت تیمارهای اعمال شده با BA سوچجه‌ای تشکیل نشد. در واقع BA نه تنها تولید سوچجه را تحریک نکرد بلکه در مقایسه با شاهد مانع از تولید سوچجه نیز شد. این نتایج با گزارش تاتاری و همکاران (۱۶) که عنوان نمودند اثر تیمار BA در ریازادیادی گیاه سوسن چلچراغ باعث شد تا تعداد پیازچه، وزن پیازچه و تعداد ریشه کمتری نسبت به نمونه شاهد ایجاد شود، مطابقت دارد. با توجه به نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که اکسین NAA دارای نقش عمده‌ای در بازبازی سوماتیکی لاله واژگون است. کومار و همکاران (۷) با استفاده از NAA بالاترین بازبازی را در پیاز زنبق نسبت به هورمون‌های BA و TDZ به دست آوردن. با توجه به نتایج، به نظر می‌رسد تولید سوچجه در گیاه لاله واژگون بیشتر تحت تأثیر اکسین باشد به‌نحوی که بیشترین تعداد ریشه نیز از ریزنمونه‌های کشت شده در محیط دارای ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد. این نتایج با گزارش شی او و همکاران (۱۵) که عنوان نمودند NAA باعث افزایش بهبود



شکل ۲. بلندترین سوچجه تشکیل شده در محیط ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA

(قسمت‌هایی از آن در حال تشکیل کالوس و بازبازی غیرمستقیم است)

از ۲ ماه در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA به دست آمد (شکل ۲). کوچکترین آن در تیمار شاهد با ۴/۳۳ میلی‌متر مشاهده شد که با تیمارهای گروه IAA و TDZ تفاوت معنی‌داری نشان نداد و سیکترین سوچجه از محیط ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هورمون TDZ به دست آمد (جدول ۱).

## بحث

محمدی ده چشمی (۱۲) و غلامی (۵) علی‌رغم اعمال تیمارهای مختلف از قبیل الكل، هیپوکلریت سدیم، کلرید جیوه و تیمار حرارتی موفق به استقرار جداکشت‌های سالم از ریزنمونه فلس لاله واژگون نشدند و در نتیجه از ریزنمونه‌ی گلبرگ استفاده کردند؛ آنها ناموفق بودن خود در به دست آوردن ریزنمونه‌های سالم را به آلدگی داخلی باکتریایی مربوط دانستند و به همین دلیل به استفاده از جداکشت‌های غیر از سوخ، در ریازادیادی گیاه لاله واژگون تأکید نمودند. نتایج این پژوهش نشان داد که با فرض وجود آلدگی داخلی در سوچه‌ای در مورد استفاده، این آلدگی‌ها در تمام قسمت‌های بافت فلس انتشار نداشته و یا

تشکیل شدن تعداد بیشتر ریشه در این غلظت از هورمون باشد که باعث جذب مواد غذایی بیشتر و رشد سریع‌تر سوچه می‌شود. تولید سوچه‌های مستقیم از ریزنمونه فلس ۲ ماه بعد از کاشت قابل حصول است در حالی‌که کالوس‌دهی و تولید سوچه غیرمستقیم از روی کالوس حداقل ۴ ماه به‌طول می‌انجامد. با توجه به نرخ قابل قبول باززایی مستقیم سوچه از ریزنمونه‌های فلسفی، این روش راه سریع‌تری جهت افزایش درون شیشه‌ای گیاه لاله واژگون ارایه می‌دهد.

### سپاسگزاری

از مسئولین و همکاران محترم پارک علم و فناوری استان گیلان به خاطر فراهم نمودن امکانات لازم در جهت اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

ریشه‌زایی سوچه‌های تشکیل شده گردید، مطابقت داشت. معلمی و چهرازی (۱۱) بیشترین تعداد ریشه را در گیاه گل کاغذی از تیمار NAA به‌دست آوردند. ماریسکا و همکاران اثر اکسین‌ها را روی رشد ریشه پیاز سوسن بررسی و بیشترین ریشه‌زایی را در محیط کشت دارای ۱/۰ میلی‌گرم در لیتر IAA گزارش کردند. اکسین‌ها با تأثیر بر تقسیم سلولی، طویل شدن سلول و تمایز سلولی را تحریک می‌کنند و باعث افزایش تشکیل ریشه‌های جانبی می‌شوند (۸). همچنین بیشترین اندازه و وزن سوچه نیز در تیمار ۲ میلی‌گرم در لیتر NAA و سبک‌ترین سوچه در تیمار ۰/۵ میلی‌گرم در لیتر هومرون TDZ مشاهده شد زیرا در این غلظت از هورمون TDZ، محدود سوچه‌های تشکیل شده به جای بزرگ‌شدن به سمت تولید کالوس تمايل داشتند. اکسین علاوه‌بر نقش عمده در باززایی در افزایش اندازه سوچه نیز مؤثر است. دلیل این موضوع می‌تواند

### منابع مورد استفاده

1. Bryan, J. E. 2005. Bulbs. Timber Press. Oregon, London.
2. De Hertogh, A. and M. Lenard. 1993. The physiology of flower bulbs. Elsevier 718-739.
3. Eslamzadeh, N., H. Hoseini, H. Moradi and F. Dehkordi. 2009. Introduction of new habitat for the *Fritillaria*, a GIS approach. *Journal of Environmental Sciences and Technology* 11(1): 251-261 (In Farsi).
4. Gamborg, O. L., R .A .Miller and K. Ojima. 1968. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells. *Experimental Cell Research* 50: 151-158.
5. Gholami, M. 2007. Micropropagation of inverted tulip (*Fritillaria imperialis* L.). MSc. Thesis, University of Avicenna. Hamedan, Iran.
6. Khalighi, A. 1997. Floriculture and Ornamental Plants of Iran, Tehran University Press, Iran.
7. Kumar, S., D. R. Sharma, Y. D. Sharma and N. S. Pathania. 2001. *In vitro* propagation of Asiatic hybrid lily from bulb scales. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 71: 463-465.
8. Lincoln, C. and M. Estelle. 1991. The axr1 mutation of *Arabidopsis* is expressed in both roots and shoots. *Journal of the Iowa Academy of Science* 98(2): 68-71.
9. MemarMoshrefi, M. 1998. Effect of hormones and environmental conditions on growthand development, bulb propagation andflowering in *Fritillaria*. PhD. Thesis, Horticulture Depatrment., Tarbiat Modarres University. Tehran, Iran.
10. Mohammadi-Dehcheshmeh, M., A. Khalighi, R. Naderi, M. Sardari and E. Ebrahimie. 2008. Petal: A reliable explant for direct bulblet regeneration of endangered wild populations of *Fritillaria imperialis* L. *Acta Physiologia Plantarum* 30: 395-399.
11. Moalemi, N. and M. Chehrazi. 2003. The effect of auxin on rooting of cuttings (with and without leaves) in *Bougainvillea spectabilis*. In: Proceeding of 3<sup>th</sup> Congress of Horticultural Science Abstracts. Karaj, Iran. pp. 110.
12. Mohamadi-Dehcheshmeh, M. 2005. Using tissue culture techniques in the reproduction of endangered species of theinverted tulip native to Iran. MSc. Thesis, Tehran University. Tehran, Iran.
13. Okawa, M., K. Junya, N. Kei, K. Norico. 1998. Studies on the propagation of *Fritillaria camschatcensis* Ker-Gawl. byin vitro culture. II. Effect of plant hormones on the growth, leaf emergence, and rooting of bulblets. *Japanese Society for Horticultural Science* 68 (1): 184-188.
14. Paek, K. Y. and H. N. Murthy. 2002. High frequency of bulblet regeneration from bulb scale sections of *Fritillaria thunbergii*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 68: 247-252.

15. Shiau, Y. J., C. D. Tai, C. C. Chen and H. S. Tsay. 2000. Studies on the tissue culture of *Fritillaria hupehensis*. *Journal of Agricultural Research of China* 49 (4): 29-38.
16. Tatari, M., R. Fotouhi Qazvini and Y. Hamidoghi. 2003. Effect of plant growth regulators and explants in *in vitro* culture of *Lilium ledebourii*. *Journal of Agricultural Sciences* 12: 19-28. (In Farsi)