Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 781-792
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۷۹۲-۷۸۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

بررسی امکان القاء پلی پلوییدی در سوخ‌های سنبلک Muscari با استفاده از ته شکافی و تیمار کلشی‌سین

عبدالرضا رمضان قنبری[۱] - ایمان روح اللهی[۲*]

دریافت: ۱۳۹۷۸/۰۶/۰۹
پذیرش: ۱۳۹۸/۰۸/۲۵

چکیده

سنبلک به عنوان گل سوخ‌دار مقاوم به سرما، با رنگ آبی و تمایل به گلدهی چندباره قابلیت استفاده زیادی در فضای سبز دارد. ته‌شکافی در تکثیر گل‌های سوخ‌دار به روش سنتی یا در ترکیب با تکنیک کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد. ترکیبات زیادی مانند کلشی‌سین می‌توانند موجب پلی‌پلوییدی شوند. با هدف ارزیابی تاثیر همزمان تیمار کلشی‌سین و ته شکافی بر زنده‌مانی و احتمال ایجاد پلی‌پلوئیدی سوخ‌های سنبلک، دو آزمایش جداگانه هر کدام طی دو سال انجام شد. در آزمایش اول، تیمار کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد در سه تیمار زمانی ۲۴،۱۲ و۳۲ ساعت در دو گروه شکاف‌زده و شکاف‌نزده اعمال و در نهایت درصد زنده‌مانی، درصد گلدهی، فاکتورهای مرفولوژیکی و تراکم روزنه و طول و عرض روزنه ارزیابی شد. در آزمایش دوم تاثیر شکاف‌دهی همزمان با تیمار کلشی‌سین ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد به مدت ۲۴ ساعت برای دوسال، مشابه آزمایش اول مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که شکاف‌دهی سوخ‌ها و غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین، تاثیر منفی بر میزان درصد زنده مانی و گلدهی سوخ‌های سنبلک داشته است. تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۲ ساعت، بدون شکاف‌دهی یکی از بهترین روش تیمار برای القا پلی پلوییدی در گل‌های سوخ‌دار خصوصاً سنبلک می‌باشد. این در حالی است که تیمار ۳۲ ساعت سوخ سنبلک با کلشی‌سین ۰/۰۵ در سال دوم بیشترین درصد زنده مانی (۷۵ درصد) و درصد گلدهی (۱۰ درصد) را به خود اختصاص داد. غلظت بالای کلشی‌سین و شکاف‌دهی درصد زنده مانی و درصد گلدهی را کاهش دادند. در نهایت برای افزایش احتمال القاء پلی پلوییدی در سنبلک و سایر گیاهان سوخی، طبق نتایج هر دو آزمایش انجام شده غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت بدون تیمار شکاف‌دهی با زنده مانی ۸۵ درصد و گلدهی ۴۵ درصد در سال اول و زنده مانی ۷۰ درصد و گلدهی ۵ درصد در سال دوم توصیه می‌شود. این تیمار به نحو معنی‌داری تعداد روزنه را ۵۰ درصد کاهش و طول روزنه و عرض روزنه را ۵۰ درصد افزایش داد.

واژه‌های کلیدی : تکثیر، درصد زنده‌مانی، روزنه ،گل سوخ‌دار

مقدمه

گل‌های زینتی شامل بیش از هشتصد جنس گیاهی مختلف هستند که در پاسخ به شرایط متفاوت محیطی مناطقی که از آن منشاء گرفته‌اند، دارای فیزیولوژی و زیست شناسی متفاوتی می‌باشند (۱). اصلاح و تولید ارقام جدید گیاهان زینتی و تکثیر و پرورش آن‌ها، صنعتی رو به گسترش است. از نظر ریخت شناسی، گیاهان سوخدار با اندام‌های زیززمینی مانند ریزوم، غده، پداژه و یا سوخ شناخته می‌شوند. سنبلک (*Muscari neglectum*) از خانواده مارچوبه، سوخ‌دار و شامل ۵۰ گونه است که بومی اروپا و آسیا است (۲). سنبلک را به راحتی می‌توان پیش‌رس نموده و به عنوان گیاه گلدانی و یا شاخه بریده مورد استفاده قرارداد، به علاوه گیاه بسیار مناسبی برای باغ و فضای باز می‌باشد (۳). گل‌های سنبلک خوشه‌ای و در انتهای ساقه در طیف رنگی زیادی (آبی، سفید، ارغوانی تا آبی تیره) قرار دارند و زمان گلدهی این گیاه معمولاً دراوایل بهار می‌باشد (۱). سنبلک به راحتی در باغ‌ها تکثیر می‌شود و به شرایط متنوعی از رشد و پیش‌رس شدن سازگار می‌باشد. این گیاه برای باغ‌های صخره‌ای، حاشیه‌سازی و به عنوان گیاه چند ساله در بین چمن‌ها، درختان و بوته‌ها، در نقاط آفتابی قابل استفاده است. غالباً در هر خاکی کاشت آن موفقیت‌آمیز است اما بهترین رشد را در خاک‌هایی با زهکشی مناسب خواهد داشت (۳). سنبلک از گیاهان دائمی سوخ‌دار بوده و برگ‌های علفی آن در پاییز ظاهر می‌گردد. دانهال‌های حاصل از بذر پس از سه سال به گل می‌نشینند (۱). گیاهان سوخ‌دار نه تنها به وسیله بذر بلکه به وسیله اندام های زیرزمینی تکثیر شده و تداوم نسل

۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد
(*- نویسنده مسئول: Email:I.rohollahi@shahed.ac.ir)
DOI: 10.22067/jhorts4.v33i4.82408

www.SID.ir

Archive of SID

می‌دهند. ته‌شکافی یا Scoring در تکثیر گل‌های سوخ‌دار به روش سنتی یا در ترکیب با تکنیک کشت بافت مورد استفاده قرار می‌گیرد، این روش از سال ۱۹۳۵ میلادی استفاده می‌شود و سوخک‌های حاصل از آن طی دوسال به سایز مناسب برای فروش می‌رسند (۱). روش ته‌شکافی بیشتر برای تحریک سوخک در سنبل (Hyacinthus)، نجم آبی (*Scilla*) و سنبلک (*Muscari*) استفاده می‌شود. جهت اعمال ته‌شکافی چند شکاف متقاطع در محل صفحه پایگاهی سوخ ایجاد می‌شود به طوری که عمق این شکاف‌ها تا محل مریستم مرکزی برسد. پس از این عمل سوخ را به صورت وارونه در ماسه خشک و تمیز به مدت دو هفته قرار می‌دهند تا در محل برش خورده پینه تشکیل شود. در این روش از هر سوخ مادری تا ۲۴ عدد سوخک تشکیل می‌شود (۳). کاربرد گیاهان زینتی در فضای سبز و افزایش تقاضای مردم به ارقام جدید سبب شده تا بهنژادگران برای تولید واریته‌های جدید با رنگ جذاب، گل بزرگ‌تر، دوام بیشتر، عطر زیاد و مقاومت به تنش‌های زیستی و غیر زیستی برنامه ریزی نمایند. تنوع یک اصل اساسی در هر برنامه اصلاحی است و اصلاح گیاهان بر جمع‌آوری، انتخاب و ازدیاد ژنوتیپ‌های جدید تکیه دارد. روش‌های بهنژادی جهت ایجاد تنوع در گل و گیاهان زینتی صنعتی جهانی است، از راه‌های ایجاد تنوع در گیاهان ایجاد جهش و پلی‌پلوییدی است (۴). یکی از انواع جهش‌ها شامل تغییر در تعداد کروموزوم‌ها است (پلی‌پلوئیدی) که در تکامل طبیعی و اصلاح نباتات نقش بسیار مهمی داشته‌است. پلی‌پلوئیدی معمولاً بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی (ضخامت، اندازه و شکل اندام‌های رویشی وزایشی گیاه ، میکروسکوپی (اندازه و تراکم روزنه و سلول‌های نگهبان روزنه، تعداد کلروپلاست‌های سلول‌های محافظ روزنه) ، فیزیولوژیکی (زمان و طول مدت گل‌دهی، باروری گیاه، ویژگی‌های دانه و قدرت باروری دانه‌های گرده، فتوسنتز، مقاومت در برابر تنش و غیره) و فرآیندهای بیو شیمیایی گیاه نیز موثر است (۵). برای القاء پلی‌پلوئیدی در گیاهان می توان از مواد شیمیایی مانند کلشی‌سین استفاده نمود. کلشی سین آلکالوئیدی است که از سوخ‌های گیاهی از خانواده لاله (لیلیاسه) با نام گل حسرت (*Colchicum speciosum*) استخراج می‌شود. کلشی‌سین باعث تخریب تارهای دوکی شکل می‌شود که این تارها وظیفه‌شان انتقال و هدایت کروموزوم‌ها به قطبین می‌باشد. دراثر تخریب این تارها چرخه تقسیم سلولی در مرحله متافاز متوقف شده و در مرحله آنافاز عملی نمی‌شود، در نتیجه کروموزوم‌های دوبرابر شده درداخل یک هسته باقی خواهند ماند (۴). کلشی‌سین تمایل زیادی جهت اتصال به میکروتوبول‌های سلول‌های جانوری دارد، بنابراین برای انسان سمی وسرطان‌زا بوده و تماس پوستی و حتی استنشاق آن بسیار خطرناک ومضر می‌باشد (۶). سنبلک یک گل سوخ‌دار زینتی و اقتصادی محسوب شده و با توجه به رنگ زیبای منحصر به فرد آن، تمایل سوخ‌ها به گلدهی چندباره و مقاومت بسیار زیاد به سرما و زود گلدهی در فصل بهار و امکان کاشت آن به همراه سایر گل‌های سوخ‌دار، توجه زیادی به آن در دنیا معطوف شده است(۳). با هدف القاء گامت‌های دیپلوییدی در *Lilium oriental* ‘con Amore’ با غلظت‌های ۰، ۰/۰۲، ۰/۰۵، ۰/۱ و ۰/۲ کلشی‌سین مشاهده شد که غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین بالاترین درصد القاء جهش را به خود اختصاص داده، در حالی که غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین رتبه دوم درصد القاء جهش را نشان می دهد و مرگ و میر نمونه ها در آن به نصف کاهش یافته است (۴). در تیمار نمونه‌ای کشت بافتی *Muscari armeniacum* با استفاده از کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۵ ساعت در محیط کشت بافت میزان القاء پلی–پلوییدی به ۴۵/۶ درصد رسید، نمونه ای تیمار شده با کلشی‌سین در مقایسه با نمونه‌های دیپلوییدی معمولی برگ‌های بزرگ‌تر و ضخیم‌تر با رنگ سبز تیره تر داشتند (۷). اطلاعات چندانی از روش‌های بهینه تیمار گل‌های سوخ‌دار با مواد جهش‌زا مانند کلشی‌سین وجود ندارد. بعلاوه مطالعه‌ای درباره کاربرد همزمان روش‌های ویژه تکثیر در گیاهان سوخ‌دار مانند ته شکافی با تیمار کلشی‌سین انجام نشده است. بنابراین تاثیر همزمان تیمار ته شکافی و کلشی‌سین بر امکان ایجاد پلی‌پلوییدی در سنبلک مورد ارزیابی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

به منظور مطالعه تاثیر همزمان تیمارهای ته‌شکافی و تیمار کلشی‌سین در غلظت‌ها و زمان‌های مختلف غوطه‌ور سازی بر سوخ‌های سنبلک، دو آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار و در هر تکرار با ۲۰ عدد پیاز طی دو سال جداگانه انجام شد. قابل ذکر است که درصد زنده مانی و درصد گلدهی تنها بر اساس درصد گیاهان زنده مانده و درصد گلدهی در بین ۲۰ پیاز تیمار شده مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش در محل باغ تحقیقاتی گیاهان زینتی در دانشگاه شاهد تهران در طی دوسال در فضای باز با میانگین دمای هوای (جدول ۱) انجام شد.

سوخ‌های سنبلک از گونه *Muscari armeniacum* (www.flowerbulbsholland.com– ۱۳۹۶) تهیه و برای این مطالعه استفاده شدند. غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد محلول کلشی‌سین (Sigma Chemical Co., St. Louis, Missouri, USA) تهیه شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- دمای هوا در محل انجام آزمایش در طی سال های ۱۳۹۶ و ۱۳۹۷

Table 1- Weather temperature in experiment site during the 2017 and 2108.

دمای هوا C°	اسفند March	بهمن February	دی January	آذر December	آبان November	مهر October	شهریور September	مرداد August	تیر July	خرداد June	اردیبهشت May	فروردین April
سال 1396 Year 2017	13	11	16	16	22	30	36	34	35	28	24	15
سال 1397 YEAR 2018	8	7	8	15	23	30	35	۳۵	35	21	20	25

آزمایش اول: سوخ‌های سنبلک تحت دو تیمار شکاف‌دهی در ۲ سطح (شکاف دهی و عدم شکاف‌دهی) و کلشی‌سین با غلظت ۰/۰۵ درصد در زمان‌های ۳ زمان غوطه ورسازی (۱۲، ۲۴ و ۳۲ ساعت) قرار گرفتند، در کنار تیمارهای بیان شده شاهد بدون تیمار شکاف‌دهی و بدون تیمار کلشی‌سین در نظر گرفته شد. برای این کار پیازها به نحوی در ظروف حاوی کلشی‌سین قرار گرفتند که فقط ریشه‌ها و صفحه پایگاهی سوخ‌ها در تماس با محلول کلشی‌سین قرار گرفته و فلس‌ها خارج از محلول بودند. پیازهای شاهد فقط در آب مقطر قرار داده شدند. سپس سوخ‌های تیمار شده با محلول کلشی‌سین در مهرماه درون گلدان‌هایی به عمق ۵۰ سانتیمتر حاوی ۵۰درصد پیت ماس و ۵۰ درصد پرلیت کاشته شدند. گلدان‌ها در شرایط طبیعی و محیط باز سرمادهی شده و بعد از ۶ ماه رشد و نمو صفت‌های (درصد زنده مانی، درصد گلدهی، تعداد برگ، طول بلندترین برگ، طول گلچه و طول دمگل) در سال اول مورد ارزیابی قرار گرفتند. سپس سوخ‌ها با سوخک‌های تولید شده بعد از خشک شدن کامل اندام هوایی در تیرماه از خاک خارج، هوادهی و در دما و رطوبت مناسب در پاکت‌های کاغذی به صورت جداگانه در اتاق‌های خشک و دارای تهویه مناسب در ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. در سال دوم هر یک از سوخ‌های تیمار شده همراه با سوخک‌های آن‌ها برای ارزیابی مجدداً همانند سال اول در مهرماه کاشته شدند. صفت‌های مورد ارزیابی در سال دوم عبارت بودند از: درصد زنده مانی، درصد گلدهی، تعداد برگ، طول بلندترین برگ، عرض برگ، تعداد و طول و عرض روزنه.

آزمایش دوم: برای مقایسه تاثیر دو غلظت ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد محلول کلشی‌سین جهت القاء پلی‌پلوئیدی در گیاه سنبلک، سوخ‌های مورد استفاده در آزمایش دوم، تحت تیمار زمانی ۲۴ ساعت در دو گروه شکاف‌نزده و شکاف‌زده، در غلظت‌های بیان شده قرار داده شدند. در کنار تیمارهای بیان شده شاهد بدون تیمار شکاف دهی و بدون تیمار کلشی‌سین در نظر گرفته شد. همه شرایط انجام آزمایش دوم مانند آزمایش اول و طی دو سال انجام گردید. برای اندازه‌گیری طول و عرض و تراکم روزنه‌ها از قسمت میانی اپیدرم فوقانی همه برگ‌های سوخ‌های زنده و بالغ با استفاده از تکنیک براق کننده ناخن (۸) از تمام گیاهان سنبلک نمونه تهیه شد. نمونه‌های تهیه شده روی لام قرار داده شده و از تمام نمونه‌ها با استفاده از دوربین دیجیتالی که به میکروسکوپ نوری (Olympus, BX 40, Tokyo, Japan) متصل بود، عکس‌برداری انجام و ابعاد، تعداد و تراکم روزنه‌ها با نرم افزار Image J (NIH، USA) مورد ارزیابی قرار گرفت. تمام داده‌های به دست آمده از مشاهده‌های میکروسکوپی مربوط به هر تیمار ثبت گردید. کلیه داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS 9.4 آنالیز شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار اکسل انجام شدند.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش اول – سال اول (جدول ۲) نشان می دهد که بالاترین درصد زنده‌مانی (۱۰۰ درصد) و گلدهی (۵۵ درصد) درسوخ‌های شکاف نزده و ۱۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین قابل مشاهده است. همچنین پایین‌ترین درصد زنده‌مانی (۵۵ درصد) و گلدهی (۵ درصد) مربوط به تیمار ۳۲ ساعت با کلشی‌سین و تیمار شکاف‌دهی بود (جدول ۲).

در آزمایش اول – سال دوم بالاترین درصد زنده‌مانی (۷۵ درصد) و گلدهی (۱۰ درصد) در سوخ‌های شکاف نزده و ۳۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین بود و پایین ترین درصد زنده‌مانی (۳۰ درصد) و گلدهی (۰ درصد) در ۱۲ ساعت تیمار سوخ‌ها با کلشی‌سین وتیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۲). در همه سوخ‌های تحت تیمار شکاف دهی در سه زمان ۱۲ ، ۲۴ و ۳۲ ساعت استفاده از کلشی‌سین، گلدهی (۰ درصد) مشاهده نشد (جدول ۲).

در آزمایش دوم–سال اول بالاترین درصد زنده مانی (۸۵ درصد) در تیمار ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین و بدون شکاف‌دهی وپایین‌ترین درصد زنده‌مانی در تیمار ۰/۱ درصد کلشی‌سین تحت تیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۳). بالاترین درصد گلدهی (۴۵ درصد) در تیمار۰/۰۵ درصد کلشی‌سین و بدون تیمار شکاف‌دهی مشاهده شد (جدول ۳). همچنین پایین‌ترین درصد گلدهی (۱۵درصد) در سوخ‌های تیمار شده با ۰/۱ درصد کلشی‌سین و تحت تیمار

www.SID.ir

Archive of SID

شکافدهی مشاهده شد (جدول ۳).

در آزمایش دوم–سال دوم بالاترین درصد زندهمانی (۷۰ درصد) در سوخهایی تحت تیمار ۰/۰۵درصد کلشیسین بدون شکافدهی مشاهده و کمترین درصدزندهمانی (۰درصد) نیز در سوخهای تحت تیمار ۰/۱درصد کلشیسین و تحت تیمار شکافدهی مشاهده شد (جدول ۳). تیمار شکافدهی تاثیر منفی بر زنده مانی و گلدهی داشته و قابل توصیه نمی باشد. نفوذ کلشیسین طی تیمار شکافدهی درون صفحه پایگاهی باعث کاهش شدید درصد زنده مانی و گلدهی در سوخهای سنبلک شده است. در بین تیمارهای زمانی اعمال شده در آزمایش اول، سال اول ۱۲ ساعت و سال دوم ۳۲ ساعت تیمار با کلشیسین بهترین درصد زنده مانی و گلدهی را نشان دادند.

جدول ۲ - درصد زنده مانی و گلدهی سنبلک Muscari در آزمایش اول – سال اول و دوم تحت تیمار کلشیسین ۰/۰۵ درصد و تیمار شکافدهی در سه زمان ۱۲، ۲٤ و ۳۲ ساعت تیمار با کلشیسین.

Table 2 - The percentage of viability and flowering of *Muscari armeniacum* in the first experiment-first and second year treated with Colchicine 0.05درصد and scoring in three soaking time (12 h, 24 h and 32 h).

شکافدهی Scoring	شاهد Control	با شکافدهی With Scoring			بدون شکافدهی Without Scoring		
کلشیسین Colchicine (hour)	0	32 h	24 h	12 h	32 h	24 h	12 h
First Year							
درصد زنده مانی Viability*	100	55	65	60	65	85	100
درصد گلدهی Flowering	100	5	20	20	40	45	55
Second Year							
درصد زنده مانی Viability	100	50	60	30	75	70	70
درصد گلدهی Flowering	100	0	0	0	10	5	0

* درصد زنده مانی با توجه به درصد گیاهان زنده مانده در بین ۲۰ عدد سوخ تیمار شده در هر تکرار محاسبه شده است. h= ساعت

* Viability percentage was calculated based on 20 bulbs per replication. h= Hours

جدول ۳- درصد زنده مانی و گلدهی سنبلک Muscari در آزمایش دوم – سال اول و دوم تحت تیمار کلشی سین ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تیمار شکافدهی طی ۲٤ ساعت تیمار با کلشیسین.

Table 3 - The percentage of viability and flowering of *Muscari armeniacum* in the second experiment- first and second year treated with Colchicine 0.05درصد and 0.1درصد and scoring under 24 h soaking time

کلشی¬سین (درصد) Colchicine	شاهد Control	0.05 (درصد)		0.1 (درصد)	
	Control شاهد	With Scoring با شکافدهی	Without Scoring بدون شکافدهی	With Scoring با شکافدهی	Without Scoring بدون شکافدهی
		First Year سال اول		First Year سال اول	
Viability* درصد زنده مانی	100	65	85	25	35
Flowering درصد گلدهی	100	20	45	15	20
		Second Year سال دوم		Second Year سال دوم	
Viability* درصد زنده مانی	100	60	70	0	40
Flowering درصد گلدهی	100	0	5	0	5

* درصد زنده مانی با توجه به درصد گیاهان زنده مانده در بین ۲۰ عدد سوخ تیمار شده در هر تکرار محاسبه شده است.

* Viability percentage was calculated based on 20 bulbs per replication.

www.SID.ir

Archive of SID

همانطور که از بررسی منابع انتظار می رفت در طی آزمایش دوم مشخص شد که بهترین غلظت کلشی‌سین تیمار ۰/۰۵ درصد می‌باشد، غلظت های بالاتر تاثیر منفی بر زنده مانی و گلدهی داشتند. در بررسی امکان القاء پلی‌پلوئیدی در گیاه ریحان، تاثیر غلظت کلشی‌سین و مدت زمان تیمار واثر متقابل آنها بر درصد زنده‌مانی گیاهان، معنی‌دار بود، به نحوی که پس از تیمار شاهد (غلظت صفر درصد کلشی‌سین) بیشترین درصد زنده‌مانی (۴۷/۴) مربوط به غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین بود (۹)

مطابق نتایج تجریه واریانس (جدول ۴) در آزمایش اول–سال اول تاثیر مدت زمان تیمار با کلشی‌سین بر طول بلندترین برگ و طول دمگل در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار است. تاثیر تیمار شکاف‌دهی بر طول بلندترین برگ و دمگل در سطح احتمال یک درصد معنی‌داراست. مطابق جدول تجزیه واریانس (جدول ۴) در آزمایش اول – سال دوم تاثیر مدت زمان تیمار کلشی‌سین بر عرض برگ و عرض روزنه معنی‌دار است. تیمار شکاف‌دهی بر عرض روزنه تاثیر معنی داری داشته است (جدول ۴). در سایر فاکتورهای ارزیابی شده تفاوت معنی داری تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده مشاهده نشد (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۵) در آزمایش اول–سال اول تاثیر زمان غوطه وری در کلشی‌سین بر طول برگ و طول دمگل را نشان می‌دهد که مدت زمان تیمار ۱۲ ساعت با کلشی‌سین غلظت ۰/۰۵ درصد به نحو معنی‌داری بر صفت‌های طول برگ (۲۰/۶۹) و طول دمگل (۱۹/۷۲) تاثیر داشته است. تیمار ۲۴ ساعت نیز تفاوت معنی داری نسبت به تیمار ۱۲ ساعت کلشی‌سین در طول دمگل (۱۷/۰۶) نشان نمی دهد. در آزمایش اول–سال دوم تیمار ۱۲ ساعت کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد به نحو معنی داری عرض برگ (۰/۶۳) و عرض روزنه‌ها (۰/۰۱۵) را افزایش داد (جدول ۴). با توجه به نتایج به دست آمده از تاثیر تیمار ۲۴ ساعت در آزمایش اول، در آزمایش دوم تنها تیمار ۲۴ ساعت با کلشی‌سین انتخاب و در کنار غلظت بالاتر کلشی‌سین نسبت به آزمایش اول ارزیابی شد. در آزمایش اول –سال اول مطابق نتایج مقایسه میانگین تاثیر تیمار شکاف‌دهی روی طول دمگل و طول برگ (جدول ۶) تیمار شکاف‌دهی به نحو معنی‌داری بر صفت‌های طول برگ و طول دمگل تاثیر داشته و بیشترین طول برگ (۲۱/۴۱) و طول دمگل (۱۹/۰۵) در تیمار عدم شکاف‌دهی حاصل شد. تیمار شکاف‌دهی همزمان با تیمار کلشی سین به نحو معنی داری طول برگ را ۱۷/۸ درصد و طول دمگل را ۴۴/۶ درصد نسبت به شاهد کاهش داد (جدول ۶). در آزمایش اول – سال دوم تیمار شکاف‌دهی به نحو معنی داری عرض برگ (۰/۴۳) را نسبت به عرض برگ (۰/۶۳) در تیمار عدم شکاف‌دهی کاهش داد.

جدول ٤- تجریه واریانس اثر تیمارهای کلشی‌سین و شکاف‌دهی بر برخی خصوصیات سنبلک Muscari (آزمایش اول – سال اول و سال دوم)

Table 4 - Analysis of variance of colchicineand scoring treatments on *Muscari armeniacum* characteristics, in first experiment – first and second year

منبع تغییرات S. O. V	درجه آزادی df	میانگین مربعات Means of Squares.					
		سال اول First Year				سال دوم Second Year	
		طول گلچه Raceme length	طول دمگل Peduncle length	طول برگ Leaf length	تعداد برگ Leaf number	عرض برگ Leaf width	عرض روزنه‌ها Stomata width
زمان غوطه وری Soaking Time	2	0.49 ns	24.92 *	74.11 *	1.5 ns	0.09 **	0.00002 *
شکاف دهی Scoring	1	0.60 ns	51.56 **	396.06 **	2 ns	0.17 **	0.00005 ns
شکاف دهی × زمان غوطه وری × Soaking Time Scoring	2	0.96 ns	0.96 ns	13.34 ns	3.5 ns	0.25 ns	0.00001 ns
خطا Error	12	0.41	4.68	15.78	1	0.005	0.00005
C.V.درصد		16	12.47	23.78	13.63	14.19	16.97

*،** و ns: معنی دار درسطوح احتمال ۵ و ۱ درصد و نبود اختلاف معنی دار

of probability level, and non-significant, respectively. درصد*, **, ns: Significant at 5 and 1

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵ - تاثیر تیمار با کلشی سین ۰/۰۵ درصد به مدت ۱۲، ۲٤ و ۳۲ ساعت بر صفت‌های بلندترین طول برگ و طول دم گل سنبلک Muscari در آزمایش اول – سال اول و سال دوم

Table 5 - The effect of treatment with colchicine ٪ 0.05 on 12, 24 and 32 h on the longest leaf length and tail flower length traits of *Muscari armeniacum*, in first experiment– first and second year

سال Year	سال اول First Year		سال دوم Second Year	
زمان غوطه وری Soaking Time	طول دمگل Peduncle Length (cm)	طول برگ Leaf Length (cm)	عرض برگ Leaf Width (cm)	عرض روزنه Stomata Width (mm)
12 h	٭٭19.52 a	20.69 a	0.39 b	0.015 a
24 h	17.06 ab	15.59 b	. 63 a	0.015 a
32 h	15.43 b	13.95 b	0.58 a	0.011 b

In each column, means with similar letters are not significantly different using Duncan's multiple range test at 5 درصد of probability.

عددهای دارای حرف‌های مشترک در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵ درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

جدول٦ - تاثیر تیمار شکاف‌دهی بر صفت‌های طول بلندترین برگ و طول دم گل سنبلک Muscari - آزمایش اول – سال اول و سال دوم

Table 6 - Effect of scoring treatment on leaf length, peduncle length of *Muscari armeniacum* in first experiment– first and second year

سال Year	سال اول First Year		سال دوم Second Year
تیمار شکاف‌دهی Scoring treatment	طول دمگل Peduncle length (cm)	طول برگ Leaf length (cm)	عرض برگ Leaf Width (cm)
بدون شکاف دهی Without Scoring	19.05 a	21.41 a	0.63 a
با شکاف دهی With Scoring	15.66 b	2.08 b	0.432 b

In each column, means with similar letters are not significantly different using Duncan's multiple range test at 5 درصد of probability.

عددهای دارای حرف‌های مشترک در هر ستون براساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن، در سطح احتمال ۵درصد تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند

جدول۷ - تجزیه واریانس تاثیر غلظت کلشی سین و تیمار شکاف‌دهی بر صفت های مورفولوژیک و روزنه سنبلک Muscari در آزمایش دوم–سال دوم

Table 7 - ANOVA for the effect of colchicine concentration and cracking treatment on morphological and stomata traits of *Muscari armeniacum* in second experiment - second year

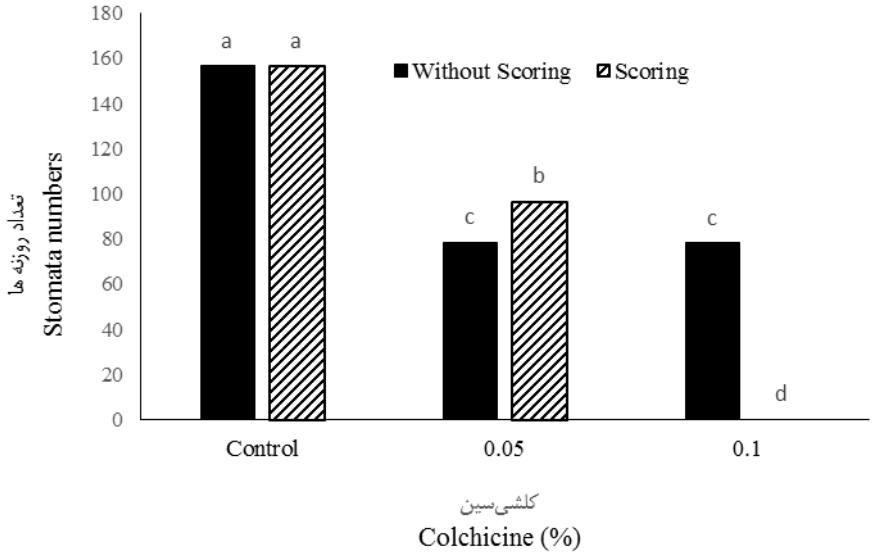
		M.S.					
منابع تغییر S. O. V	درجه آزادی df	عرض روزنه‌ها Stomata width	طول روزنه ها Stomata length	تعداد روزنه ها Stomata number	طول برگ Leaf length	عرض برگ Leaf width	تعداد برگ Leaf number
کلشی‌سین Colchicine	1	0.00003 ٭٭	0.0006٭٭	7056 ٭٭	2.88 ٭٭	0.23 ٭٭	56.33 ٭٭
شکاف‌دهی Scoring	1	0.00008٭٭	0.002 ٭٭	2730 ٭٭	13.02 ٭٭	0.31 ٭٭	16.33 ٭٭
کلشی‌سین × شکاف دهی Colchicine× Scoring	2	0.0001 ٭٭	0.001 ٭٭	6960 ٭٭	12.16 ٭٭	0.45 ٭٭	21.33 ٭٭
خطا Error	8	0.00008	0.00002	102.25	4.87	0.009	0.58
CVدرصد		21.65	16.21	15.94	17.71	19.75	16.36

٭٭ و ٭ و ns به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح ۱ درصد، معنی داری در سطح ۵ درصد و غیر معنی داری هستند.

and non significant, respectively.درصد5 ,درصد1**, * and ns indicate significantly different at

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱ - تاثیر بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکاف‌دهی بر صفت تعداد روزنه سنبلک Muscari – آزمایش دوم.

Figure 1 - Interaction effect of colchicine consentration × scoring on stomata numbers of *Muscari armeniacum* - second experiment.

تفاوت معنی داری در نتایج آزمایش دوم– سال اول تحت تاثیر تیمارهای اعمال شده مشاهده نشد. مطابق نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۷) از آزمایش دوم –سال دوم غلظت‌های مختلف کلشی‌سین و شکاف‌دهی تاثیر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر صفت‌های مورفولوژیک تعداد برگ، عرض برگ، طول بلندترین برگ و همچنین بر تعداد، طول و عرض روزنه‌ها داشتند. در آزمایش دوم– سال دوم تعداد برگ و طول برگ در تیمارهای کلشی‌سین نسبت به شاهد تفاوت معنی داری نشان داد (جدول ۷)، این تفاوت معنی دار به علت عدم سبز شدن سوخ‌های تیمار شده با ۰/۱ درصد کلشی‌سین می‌باشد. تفاوت بین سایر تیمارهای معنی دار نبود.

نتایج حاصل از مقایسه تراکم روزنه‌ها در یک میلی‌متر مربع از سطح فوقانی برگ در شاهد و گیاهان تیمار شده با کلشی‌سین در مرحله توسعه برگ‌ها در آزمایش دوم –سال دوم نشان داد که اختلاف معنی‌داری در بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکاف‌دهی بر صفت تعداد روزنه در سطح احتمال یک درصد وجود دارد (شکل ۱). به نحوی که سوخ‌های شکاف‌دهی شده در کلشی‌سین ۰/۱ درصد اصلاً سبز نشدند و سوخ‌های تیمار شده با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد نیز به نحوی معنی داری تعداد روزنه کمتری نسبت به تیمار شاهد نشان دادند (شکل ۱). در همین غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین سوخ‌های شکاف‌دهی شده به نحو معنی داری از تراکم روزنه بیشتری نسبت به سوخ‌های شکاف‌دهی نشده برخوردار بودند (شکل ۱) این در حالی است که تفاوت معنی داری در تراکم روزنه‌ها بین سوخ‌های بدون شکاف‌دهی تحت دو تیمار ۰/۱ درصد و ۰/۰۵ درصد مشاهده نشد (شکل ۱). به طوری که میانگین تراکم روزنه‌ها در سوخ‌های شکاف‌دهی نشده در شاهد برابر با ۱۵۶/۶ عدد در یک میلی‌متر مربع و در نمونه‌های تیمار شده با کلشی‌سین غلظت ۰/۰۵ درصد برابر با ۷۸/۶ عدد در یک میلی‌متر مربع و در غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین برابر با ۷۸/۳ عدد در یک میلی‌متر مربع بود (شکل ۱).

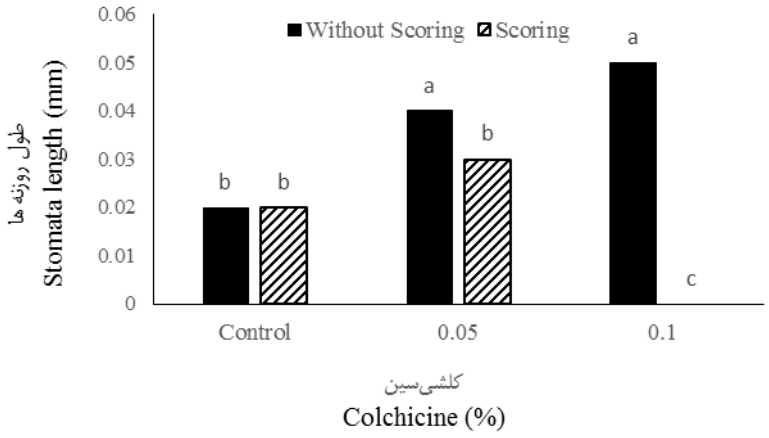
کاهش تراکم روزنه‌ها در سوخ های تیمار شده با کلشی‌سین ۰/۰۵ درصد بدون تیمار شکاف‌دهی نشان می دهد که این غلظت از کلشی‌سین طی تیمار زمانی ۲۴ ساعت می تواند برای امکان القاء پلی پلوییدی در سنبلک را افزایش دهد. مطالعه میانگین تراکم روزنه‌ها در نمونه‌های دیپلوئید گیاه ریحان نشان داد که میانگین تراکم روزنه‌ها در یک میلی متر مربع از گیاهان دیپلوئید ۲۰/۸ عدد در یک میلی‌متر مربع و در نمونه‌های تتراپلوئید ۷/۵۸ عدد در یک میلی‌متر مربع می‌باشد (۱۰). در اکثر گزارش‌ها افزایش سطوح پلوئیدی باعث کاهش تعداد روزنه‌ها و در عین حال افزایش اندازه آنها می‌گردد. بررسی این فاکتور در برخی گیاهان به عنوان روشی مناسب ارزیابی گردیده است (۱۱). در گیاه رازک طول و عرض روزنه‌ها به عنوان پارامتر مناسبی برای شناسایی گیاهان تتراپلوئید معرفی شده است (۱۲). در این تحقیق نیز تغییرات اندازه روزنه‌ها مورد بررسی قرار گرفت که نتایج آن در شکل‌های (۲ و ۳) نشان داده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۳ – A. نمونه ای از سنبلک‌های Muscari تحت آزمایش B. اندازه گیری قطر سوخ C. تراکم روزنه در نمونه سوخ تیمار شده با کلشی‌سین ۰/۰۵ (درصد) D. تراکم روزنه در نمونه شاهد (عدم تیمار کلشی‌سین).

Figure 3 A - *Muscari armeniacum* plant B. Bulb diameter measurement C. Stomata density in Musacri which treated with colchicine 0.05٪ D. Stomata density in the control plants.



شکل ۲ – تاثیر بر همکنش غلظت کلشی‌سین ×شکاف‌دهی بر صفت طول روزنه سنبلک Muscari، آزمایش دوم

Figure 2 - Interaction effect of colchicine consentration × scoring on stomata length of *Muscari armeniacum*- second experiment.

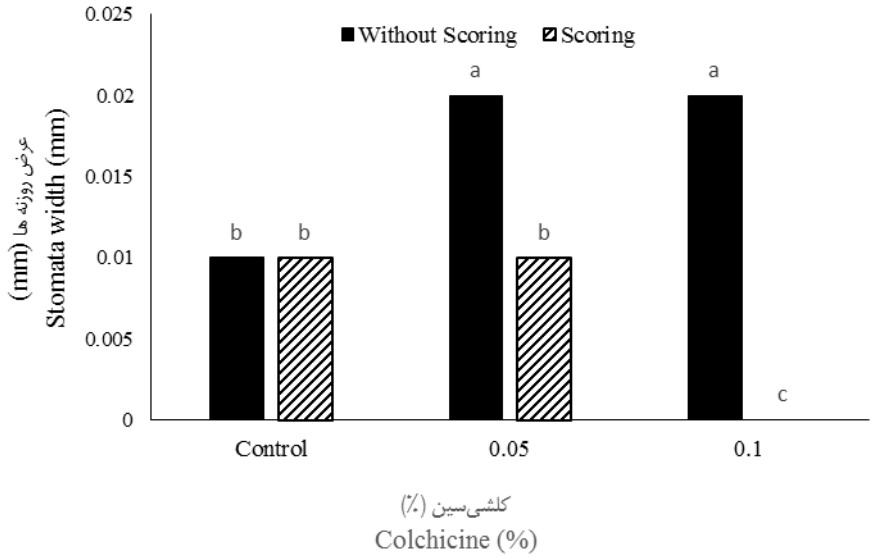
تاثیر برهمکنش غلظت کلشی‌سین × شکاف‌دهی بر صفت طول روزنه نشان داد غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین و تیمار بدون شکاف-دهی تاثیر معنی‌داری بر طول روزنه داشته است (شکل ۲). تفاوت معنی داری در صفت طول روزنه بین غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد بدون تیمار شکاف‌دهی مشاهده نشد، ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی دار بود (شکل ۲). همچنین مطابق نتایج ارائه شده در شکل (۳) بر همکنش غلظت کلشی‌سین × شکاف‌دهی بر صفت عرض روزنه، غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد کلشی‌سین و تیمار شکاف‌دهی نیز تاثیر معنی‌داری بر صفت عرض روزنه داشته است. تفاوت معنی داری در صفت عرض روزنه بین غلظت‌های ۰/۰۵ و ۰/۱ درصد تحت تاثیر تیمار عدم شکاف‌دهی مشاهده نشد، ولی تفاوت آن‌ها با شاهد معنی دار بود (شکل ۳) به نحوی که عرض و طول روزنه‌ها نسبت به شاهد تا دوبرابر افزایش نشان داد (شکل ۲ و۳). تیمار شکاف‌دهی و غلظت ۰/۱ درصد کلشی‌سین به شدت درصد زنده مانی و درصد گلدهی را کاهش داد در حالیکه تاثیر معنی داری در امکان القاء پلی پلوییدی در سوخ‌های سنبلک ایجاد نکرد. در مقایسه دو غلظت کلشی‌سین با

www.SID.ir

Archive of SID

اطمینان می توان گفت که غلظت ۰/۰۵ درصد و بدون تیمار شکاف‌دهی می‌تواند برای القاء پلی‌پلوییدی مناسب باشد. تحقیقات انجام گرفته توسط پژوهشگران نشان می‌دهد که غلظت موثر برای القای پلی‌پلوئیدی در گیاهان مختلف متفاوت است. بذور *Arctium lappa* با غلظت‌های ۰/۰۵، ۰/۱ ، ۰/۲ و ۰/۴ درصد به مدت یک تا چهار روز تیمار شدند، در این تحقیق با افزایش غلظت کلشی‌سین و زمان اعمال تیمار به شدت مرگ‌ومیر و ناهنجاری افزایش یافت (۱۳).

در تیمار ریشه گیاه ریحان با غلظت‌های صفر ، ۰/۰۵ ، ۰/۱ ، ۰/۵ و ۰/۷۵ درصد کلشی‌سین در مرحله چهار تا شش برگی، بالاترین درصد گیاهان تتراپلوئید (۸ درصد) را در تیمار با غلظت ۰/۰۵ درصد گزارش نمودند (۱۰). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که درغلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین در مدت زمان ۱۲ ساعت بالاترین درصد زنده‌مانی و گلدهی وجود دارد. همچنین در این غلظت کاهش تراکم روزنه‌ها و افزایش طول و عرض روزنه‌ها گزارش شده است.



شکل ٤ – تاثیر بر همکنش غلظت کلشی‌سین ×شکاف‌دهی بر صفت عرض روزنه سنبلک Muscari، آزمایش دوم

Figure 4 - Interaction effect of colchicine consentration × scoring on stomata width of *Muscari armeniacum*, the second experiment.

نتیجه‌گیری

غلظت ۰/۰۵ درصد کلشی‌سین در مدت زمان ۱۲ ساعت بهترین تیمار برای تولید سوخ‌های پلی‌پلوئید است، درصد زنده‌مانی و گلدهی و همچنین تغییر در صفت‌های مورفولوژیک و کاهش تراکم روزنه‌ها و افزایش طول و عرض روزنه‌های سوخ در این تیمار قابل قبول است. همچنین غلظت بالای کلشی‌سین اثر زیادی در افزایش میزان درصد مرگ‌ومیر و کاهش درصد گلدهی در سوخ‌های تیمار شده داشت. در سوخ‌هایی که تحت تیمار غلظت بالاتر کلشی‌سین و شکاف‌دهی قرارداشتند، شکاف‌دهی تاثیر منفی بر رشدونمو وگلدهی آنها داشت. در نهایت مشخص شد که غوطه‌ورسازی در کلشی‌سین به مدت ۳۲ ساعت در سال دوم موجب بیشترین درصد زنده مانی و گلدهی خواهد شد بنابراین در تیمار گل‌های سوخ‌دار مانند سنبلک باید غلظت کمتر و زمان های تیمار بیشتر را استفاده کرد و غلظت بالا در حدود ۰/۱ درصد باعث آسیب به بافت گیاه خواهد شد. با افزایش غلظت و مدت زمان تیمار با کلشی‌سین، درصد زنده‌مانی گیاهچه‌ها به دلیل افزایش سمّیت کلشی‌سین کاهش یافت. برای رفع آسیب به زنده‌مانی گیاه شستشوی سوخ‌ها بعد از تیمار غوطه ور سازی در کلشی‌سین قبل از کاشت توصیه می‌شود. از طرف دیگر باید توجه داشت تیمار شکاف‌دهی تاثیر منفی داشته و مناسب نیست. تیمارهای منتخب تحقیق انجام شده (۰/۰۵ درصد کلشی‌سین به مدت ۲۴ ساعت) با کاهش تراکم روزنه‌ها، افزایش طول و عرض روزنه‌ها و بهبود گلدهی در سال دوم امکان القا پلی پلوییدی در سوخ‌ها و سوخک‌های سنبلک را افزایش دادند. نتایج حاصل از این تحقیق نشان دادند که همبستگی منفی بین تراکم روزنه و امکان القاء پلوییدی وجود دارد و این همبستگی منفی می‌تواند به عنوان ابزار متمایز کننده ای در گیاهان با سطوح پلوئیدی متفاوت در گیاهان مختلف مورد استفاده قرار گیرد (۱۴). تعیین غلظت و مدت زمان تیمار با مواد افزاینده سطح پلوئیدی از قبیل کلشی‌سین، در یک برنامه القاء پلی‌پلوئیدی موفق ضروری است و برای هر ژنوتیپ باید به طور جداگانه بهینه شود. ارزیابی‌های درصد زنده مانی، درصد گلدهی، ویژگی‌های مرفولوژیکی و ویژگی‌های روزنه برگ مانند تراکم پایین و طول بیشتر روزنه در

www.SID.ir

Archive of SID

پیازهای تیمار شده با کلشی‌سین نسبت به شاهد، شاخص‌های مفیدی جهت پیش‌غربالگری سریع در القاء پلی پلوییدی جهت استفاده در مطالعات بعدی می باشند

منابع

1. Kamenetsky R., and Okubo H. 2012. Ornamental Geophytes [Internet]. CRC Press. Available from: http://www.crcnetbase.com/doi/book/10.1201/b12881
2. Nowak J., and Rudnicki R.M. 1993. Hyacinthus. The physiology of flower bulbs. 335–47.
3. De Hertogh A., and Le Nard M (Eds). 1993. The Physiology of Flower Bulbs. Amsterdam, Netherlands. Elsevier Science.
4.
5. McDonald M.B., and Kwong F.Y. 2005. Flower seeds: biology and technology [Internet]. McDonald MB, Kwong FY, editors. Flower seeds: biology and technology. Wallingford: CABI. Available from: http://www.cabi.org/cabebooks/ebook/20053005270
6. Alan A.R., Lim W., and Mutschler M.A. 2007. Earle ED. Complementary strategies for ploidy manipulations in gynogenic onion (*Allium cepa* L.). Plant Science. 173(1):25–31. Available from: https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168945207001057
7. Jia M., Fei W., Aiping J.I.A., and Lina Z. 2011. Colchicines Induced Polyploid Plants of *Muscari armeniacum*. Acta A griculturae Boreali-occidentalis Sinica. 20:114–8.
8. Voleníková M., and Tichá I. 2001. Insertion profiles in stomatal density and sizes in *Nicotiana tabacum* L. plantlets. Biologiacal Plantarum. 44(2):161–5. Available from: http://link.springer.com/10.1023/A:1017982619635
9. Malekzadeh Shafarodi S., Ghanni A., Habibi M., and Amiri A.1390. Evaluation possibility of polyploidy induction in *Ocmimum basilicum*. Iranian journal of horticultire science. 25:461–9.
10. Omidbaigi R., Mirzaee M., Hassani M.E., and Moghadam M.S. 2010. Induction and identification of polyploidy in basil (*Ocimum basilicum* L.) medicinal plant by colchicine treatment. International Journal of Plant Production. 4(2):87–98.
11. Thao N.T.P., Ureshino K., Miyajima I., Ozaki Y., and Okubo H. 2003 Induction of tetraploids in ornamental Alocasia through colchicine and oryzalin treatment. Analyzer. 19–25.
12. Roy A., Leggett G., Koutoulis A. 2001. In vitro tetraploid induction and generation of tetraploids from mixoploids in hop (*Humulus lupulus* L.). Plant Cell Reports [Internet]. 1; 20(6):489–95. Available from: http://link.springer.com/10.1007/s002990100364
13. Kuang Q., Liang G., Guo Q., and Li X. 2004. Polyploid induction of *Arctium lappa* by colchicine. Plant Physiology Communications. 40(2):157–68. Available from: https://europepmc.org/abstract/cba/399005
14. Vandenhout H., Ortiz R., Vuylsteke D., Swennen R., and Bai K. V. 1995. Effect of ploidy on stomatal and other quantitative traits in plantain and banana hybrids. Euphytica. 83(2):117–22.

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Horticultural Science
Vol. 33, No.4, Winter 2020, P. 781-792
ISSN: 2008 - 4730

نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)
جلد ۳۳، شماره ۴، زمستان ۱۳۹۸، ص. ۷۹۲-۷۸۱
شاپا: ۴۷۳۰ - ۲۰۰۸

Possibility of Polyploidy Induction in *Muscari armeniacum* Bulbs by Scoring and Colchicine Treatments

A. Ramezan Ghanbari[1]- I. Rohollahi[2*]

Received: 31-08-2019
Accepted: 16-11-2019

Introduction: The genus *Muscari* has 47 species according to the World Checklist of Selected Plant Families. *M. armeniacum*, belonging to the family Asparagaceae, is cultivated in pots and gardens in the temperate regions. *Muscari armeniacum* is commonly known as grape hyacinth owing to its clusters of small, bell-shaped, cobalt-blue flowers that look like clusters of upside-down grapes. Traditional methods of propagation of *Muscari* species are rather slow, since the bulblet production from the mother bulbs is extremely low. *Muscari* as a cold resistance, bulbous flower with blue color and tendency to flowering many times can be used in many prospects. On the other hand, the color of *M. neglectum* is precious as natural pigment, and it has many beneficial and useful compounds that may support human health. Traditionally, scoring facilitated the in vitro and ex–situ propagation of bulbous flower. The manipulation of ploidy is a valuable tool in improving crops. Out of many applicable methods, the use of chemicals to induce changes in chromosome number has been well established. Colchicine has been successfully applied to induce polyploidy in a series of crop species. The chromosome reduplication of *Muscari armeniacum* can be induced with mixed and soaked colchicine.

Material and Methods: Mature bulbs of *Muscari armeniacum* were bought online (www.flowerbulbsholland.com). After treatments in first and second experiment, bulbs were cultivated in experiment garden. Polyploidy induction and viability percentage by colchicine and scoring in Muscari were evaluated separately in tow factorial experiment based on the completely randomized design with three replications for two years. In the first experiment colchicine, 0.05٪ by 12, 24 and 32 hours of soaking time under scoring (with scoring and without scoring) treatment were evaluated. Finally, morphological traits such as raceme length, leaf length, leaf number, leaf width, and peduncle length were evaluated and in second year morphological traits, as well as microscopic traits including stomata numbers, stomata densities, stomata length and width were evaluated. In the second experiment, colchicine 0.05 and 0.1٪ with 24 h soaking time and scoring (with scoring and without scoring) treatment in three replications were examined according to the first experiment details. Five well expanded leaves of each plant were selected to measurement and scoring the size and density of stomata. Three samples of epidermal cells were obtained from lower surface by nail varnish technique. A small area of abaxial side of leaves was covered with thin layer of clear nail polish and left to dry. After drying the polish, it was removed with a tip forceps then placed on a glass slide and observed through the light microscope at 400 x magnification and studided bu=y digital image processing and analysis. Stomatal density, length and width were measured for each image. Stomatal elongation was counted as the ratio of stomatal length and stomatal width.

Results and Discussion: Results of the first experiment showed the heights viability (100٪) and flowering (55٪) in non-scoring bulbs and 12 hours colchicine treatments. Also the lowest viability (55٪) and flowering displayed in 32 hours colchicine and scoring treatments. At the second year of first experiment the highest viability percentage (75٪) and flowering (10٪) indicated in non-scoring bulbs and 32 hours colchicine treatment. The lowest viability (30٪) and flowering (0٪) percentage showed in 12 hours colchicine treatment with scoring bulbs. At the second year of first experiment 12 hours colchicine 0.05٪ significantly increased leaf width (0.63) and stomata width (0.015). Based on our results in the first experiment, in second experiment only 24 hours colchicine 0.1٪ treatment was evaluated. At the second year of second experiment colchicine and scoring interaction treatments had significant effects on stomata numbers. Bulbs that were scored and treated with colchicine 0.1٪ didn't germinate and colchicine 0.05٪ decreased stomata density significantly compared to control.

1 and 2- M.Sc. Student and Assistant Professor, Department of Horticulture Science, Faculty of Agriculture Science, Shahed University
(*-Corresponding Author Email:I.rohollahi@shahed.ac.ir)

www.SID.ir

Archive of SID

Conclusions: The results of the experiment showed that colchicine 0.05٪ in 12 h of soaking time is one of the best treatment for *Muscari* polyploidy induction. Whereas, 32 h colchicine 0.05٪ treatment showed the highest flower percentage and viability in second year. Also, scoring and colchicine 0.1٪ had a negative effect on the viability and the flowering percentage. High colchicine concentration and scoring treatment decrease viability and flowering. Finally, colchicine 0.05% for 24 h without scoring could increase the possibility to induce ploidy.

Keywords: Bulb flower, Propagation, Stomata, Viability.

www.SID.ir