بررسی تأثیر هینوکیتیول، پاکلوبوترازول، اسید آبسزیک، نفتالین استیک اسید و تیدیازرون بر میزان باززایی ریزوم آلسترومریا تحت شرایط درون شیشه‌ای

اسماعیل چمنی*[۱]، امید سفالیان[۲]، یونس پوربیرامی هیر[۳]، سیده صغری حسینی درویشانی[۴] و حسن ملکی لجایر[۵]

۱*- **نویسنده مسؤول:** دانشیار گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی (echamani@yahoo.com)

۲- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

۳،۴و۵- دانشجویان کارشناسی ارشد رشته علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۶ تاریخ پذیرش: ۹۰/۹/۳۰

چکیده

آلسترومریا با گل‌های بریده زیبا و طول عمر مناسب پس از برداشت، طولانی جزء یکی از گل‌های محبوب می باشد. اخیرا تولید این گیاه در کشور ما به طور چشمگیری افزایش یافته است. این گیاه به طور معمول به وسیله تقسیم ریزوم‌ها تکثیر می‌شود؛ اما سرعت تکثیر در این روش نسبتاً کم است. این آزمایش به صورت طرح کاملاً تصادفی با ۱۶ تیمار و ۵ تکرار در آزمایشگاه کشت بافت و بیوتکنولوژی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۸۹ انجام شد. برای این منظور ریزنمونه‌ها روی محیط کشت MS تکمیل شده با غلظت‌های مختلفی از اسید نفتالین استیک، اسیدآبسزیک، تیدیازرون، پاکلوبوترازول و هینوکیتول و تیمار شاهد (محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد) کشت شدند. نتایج نشان داد که تیمارهای نفتالین استیک اسید در غلظت ٤ میلی گرم در لیتر و هینوکیتیول در غلظت ۱ میلی‌گرم در لیتر بیش ترین تعداد ریزوم را نسبت به شاهد تولید کردند. در این آزمایش محیط کشت حاوی ۱۰ میلی گرم در لیتر هینوکتیول و ۱ و ٤ ماکرومولار پاکلوبوترازول هیچگونه ریزوم تولید نکردند و محیط کشت MS حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هینوکیتول بیش ترین طول ریزوم (۳/۵۸ سانتی متر) را نسبت به شاهد و سایر تیمارها تولید کرد. مقایسه های میانگین داده‌ها نیز نشان داد که بیش ترین (۸/۹۹ عدد) و کم ترین (۰/۵٦ عدد) برگ تولید شده به ترتیب در محیط کشت حاوی ۲ ماکرومولار تیدیازرون و ٤ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید تولید شد؛ هر چند، بیش ترین و کم ترین برگ از دست رفته به ترتیب در محیط کشت حاوی ۱ میلی گرم در لیتر هینوکیتیول و ۱ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید مشاهده گردید. از لحاظ تعداد و طول ساقه و نیز تعداد و طول ریشه اختلاف معنی-داری بین تیمارهای مختلف وجود نداشت.

کلید واژه ها: تیدیازرون، پاکلوبوترازول، اسیدآبسزیک، هینوکیتیول، نفتالین استیک اسید، آلسترومریا، باززایی

مقدمه

آلسترومریا[1] یکی از مهم ترین گیاهان زینتی متعلق به خانواده آلسترمریاسه[2] است که به عنوان گل بریده و گل گلدانی در سراسر جهان مورد استفاده قرار می گیرد. این گیاه عمدتاً از طریق جدا کردن ریزوم تکثیر می شود و امروزه برای تکثیر این گیاه از تکنیک‌های کشت بافت نیز استفاده می‌شود. در این گیاه جهت باززایی از جنین های بالغ، جنین های نابالغ، برگ، محور برگ، قطعات ساقه،

1- *Alstromeria aurantifolia*

2- Alstroemeriaceae

ریزوم و گل استفاده شده است (هوشینو و همکاران[1]، ۲۰۰۹). در کشت‌های درون شیشه‌ای، اغلب از اکسین‌ها و سیتوکنین‌ها برای باززایی گیاه استفاده می‌کنند. معمولاً اکسین‌ها به منظور تحریک تقسیم سلولی و تمایزیابی ریشه ها به کار می‌روند و در کشت بافت گیاهی اغلب از اکسین‌های ایندول استیک اسید (IAA)، ایندول بوتریک اسید (IBA)، نفتالین استیک اسید (NAA)، توفوردی (2,4-D) و توفورفایوتی (2,4,5-T) استفاده می‌شود (کومار و همکاران[2]، ۲۰۰۵). گزارشات متعددی از کاربرد اکسین ها در شرایط درون شیشه‌ای برای اهداف متفاوت وجود دارد. سانیوسکی و همکاران[3] (۱۹۷۴) بیان کردند که در کشت درون شیشه ای سنبل، نفتالین استیک اسید به تنهایی القای ریشه و کالوس را تحریک می‌کند. همچنین گزارش شده است که بنزیل آدنین (BA) برای تکثیر و نفتالین استیک اسید برای ریشه دهی آلسترومریا تحت شرایط درون شیشه ای مناسب است (گابری سوسکا و همپل[4]، ۲۰۰۹).

تیدیازورون (TDZ) یک علف کش مصنوعی است که دارای فعالیت تنظیم کننده رشد گیاهی است. شواهد اساسی در مورد نقش تیدیازرون در تولید پینه (کاپل و همکاران[5]، ۱۹۸۳)، غده‌زایی (کفی و همکاران[6]، ۲۰۰۰)، جنین‌زایی (گیل و ساکسنا[7]، ۱۹۹۳)، شاخه‌زایی، القای شکستن خواب جوانه و تولید جوانه های نابجا (مورتی و همکاران[8]، ۱۹۹۸) وجود دارد.

اسیدآبسزیک (ABA) یکی دیگر از مواد رشدی طبیعی است که رشد پینه، تولید شاخه‌ها و ریشه‌های نابجا، جنین‌زایی و غده‌زایی را به ءور متفاوتی تحت تأثیر قرار می‌دهد (جورج و همکارن[9]، ۲۰۰۸).

هینوکیتیول (بتا- توجاپلیسین) ازترکیبات تروپلونی است که ازچوب درختانی از قبیل کاماسیپاریس اوبتویا[10]، توجا پلیکاتا[11] حاصل می‌شود. این ماده به دلیل سمیت کم روی حیوانات، به عنوان ماده ضد میکروب در غذا و مواد آرایشی استفاده شده است (ری[12]، ۱۹۵۱). هینوکیتیول خاصیت قوی بازدارندگی رشد و جلوگیری از جوانه زنی بذر گیاه براسیکا کامپستریس[13] در غلظت ۳۰ پی‌پی‌ام را از خود نشان داده است (سانیوسکا و سانیوسکی[14]، ۲۰۰۷). همچنین گزارش شده است که بر روی فعالیت ACC- سنتاز و ACC-اکسیداز اثر بازدارندگی دارد (ربانی و میزوتانی[15]، ۱۹۹۸).

پاکلوبوترازول (PBA) با نام‌های تجاری کولتار و بونزی یکی از ترکیبات بازدارنده رشد از گروه تریازول ها می‌باشد. این ماده اثرات متنوعی روی ر شد ساقه (دیویس و همکاران[16]، ۱۹۹۸)، برگ (سباستین و همکاران[17]، ۲۰۰۲)، ریشه (پینر و همکاران[18]، ۱۹۹۷)، توزیع مواد فتوسنتزی (ییم و همکاران[19]، ۱۹۹۷) و سنتز تنظیم کننده های رشد گیاهی (ایزومی و همکاران[20]، ۱۹۸۵) دارد.

این تحقیق نیز به منظور بررسی تاثیر مواد تنظیم کننده های رشد فوق الذکر روی میزان باززایی آلسترومریا انجام شد.

1- Hoshino *et al*.
2 - Kumar *et. al.*
3 - Saniewski *et al.*
4- Gabryszewska & Hempel
5- Capelle *et al.*
6- Kefi *et al.*
7- Gill & Saxena
8- Murthy *et al.*
9- George *et al.*
10- *Chamaecyparis obtuse*
11- *Tuja plicata*
12- Ri
13- *Brasssica campestris*
14- Saniewska & Saniewski
15- Rabbany & Mizutani
16- Davis *et al.*
17- Sebastian *et al.*
18-Pinhero *et al.*
19- Yim *et al.*
20- Izumi *et al.*

مواد و روش ها

ریزوم‌های گل آلسترومریا رقم کنیامبه[1] از گلخانه‌ای در اطراف تهران تهیه شده و به گلخانه دانشکده کشاورزی گروه علوم باغبانی دانشگاه محقق اردبیلی انتقال داده شدند. پس از استقرار کامل گیاهان در گلدان، ریزوم های در حال رشد فعال به عنوان ریزنمونه درون شیشه‌ای مورد استفاده قرار گرفتند. جهت ضدعفونی ابتدا از الکل ۷۰ درصد به مدت ۴۵ ثانیه و سپس هیپوکلریت سدیم ۲ درصد به مدت ۲۰ دقیقه استفاده شد. در پایان، ریزنمونه‌ها ۳ بار با آب مقطر ۲ بار استریل شستشو داده شدند.

در این تحقیق از محیط کشت MS استفاده شد. pH محیط کشت قبل از اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی گراد در ۵/۸ تنظیم شد. تیمارهای آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش شامل اسید آبسزیک (۱، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر)، تیدیازرون (۱، ۲ و ۴ مایکرومولار)، پاکلوبوترازول (۱، ۲ و ۴ مایکرومولار)، هینوکیتیول (۱، ۵ و ۱۰ میلی گرم در لیتر) و نفتالین استیک اسید (۱، ۲ و ۴ میلی گرم در لیتر) و تیمار شاهد(محیط کشت MS بدون تنظیم کننده رشد) بود. ریزنمونه ها در اتاقک رشد در دمای $22\pm2^{\circ}C$ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۲ ماه قرار داده شدند.

صفات مورد مطالعه شامل تعداد و طول ریزوم، تعداد و طول ساقه، تعداد و طول ریشه و همچنین تعداد برگ-های سالم و از دست رفته بود. داده ها با استفاده از تبدیل جذری $\sqrt{X+0.5}$ نرمال‌سازی شده و تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام گرفت.

نتایج

۱- تعداد و طول ریزوم

تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف از لحاظ تعداد و طول ریزوم در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول شماره ۱). مقایسات میانگین بین تیمارها نیز نشان داد که بیش ترین تعداد ریزوم (نمودار شماره ۱) مربوط به تیمار ۴ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید می باشد. در این شاخص تیمار ۱۰ میلی گرم در لیتر هینوکتیول و ۱ و ۴ ماکرومولار پاکلوبوترازول ریزوم تولید نکردند. و بیش ترین طول ریزوم (نمودار شماره ۲) مربوط به تیمار ۱ میلی گرم در لیتر هینوکیتول با مقدار ۳/۵۸ سانتی متر بود.

۲- تعداد برگ سالم و از دست رفته

در مورد این شاخص نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی داری وجود دارد (جدول شماره ۱). مقایسه های میانگین داده ها نیز نشان داد که بیش ترین برگ تولید شده (نمودار شماره ۳) با میانگین۸/۹۹ عدد مربوط به تیمار ۲ ماکرومولار تیدیازرون و کم ترین میزان آن با مقدار۰/۵۶ عدد مربوط به تیمار ۴ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید است؛ اما در مورد شاخص تعداد برگ از دست رفته تیمار ۱ میلی گرم در لیتر هینوکیتیول بیش ترین برگ از دست رفته (نمودار شماره ۴) را به خود اختصاص داده بود و کم ترین آن مربوط به تیمار ۱ میلی گرم در لیتر از نفتالین استیک اسید بود.

۳- تعداد و طول ساقه

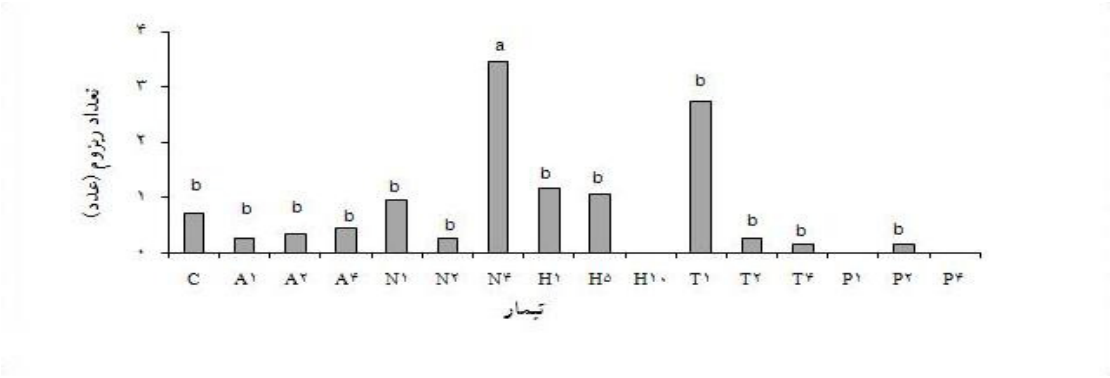
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین تیمارها از لحاظ تعداد و طول ساقه اختلاف معنی داری وجود ندارد (جدول شماره ۱). مقایسه های میانگین بین تیمارها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شد و نشان داد که بیش ترین تعداد ساقه مربوط به تیمار ۱ ماکرومولار هینوکتیول بوده و با تیمارهای ۴ ماکرومولار تیدیازورون و ۴ و۱ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید اختلاف معنی داری دارد. همچنین تیمارهای۲ ماکرومولار پاکلوبوترازول، ۱ ماکرومولار تیدیازرون و ۵ میلی گرم در لیتر هینوکتیول اختلاف معنی داری با تیمار ۴ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید داشت. کم ترین تعداد

1- *Konyambe*

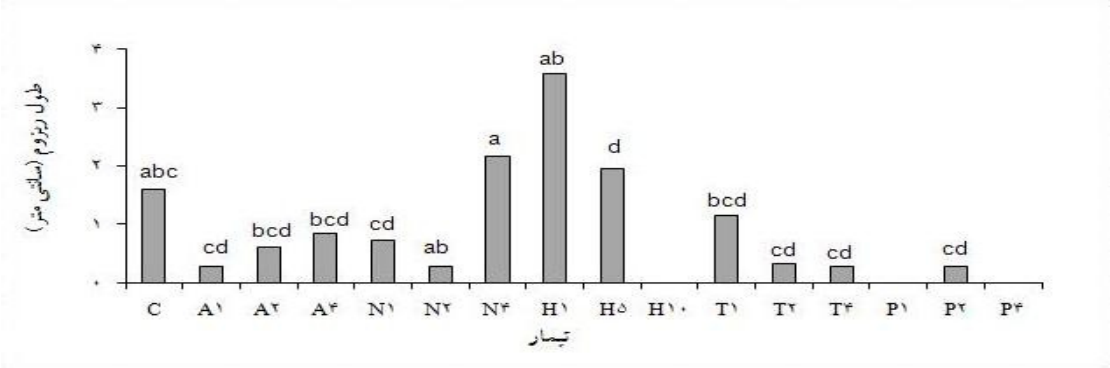
جدول ۱ – تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای مختلف روی شاخص‌های مورد مطالعه

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		تعداد ساقه	طول ساقه	تعداد ریزوم	طول ریزوم	تعداد برگ سالم	تعداد برگ از دست رفته
تیمار	۱۵	۰/۲۱ ns	۰/۰۴ ns	۰/۵۲*	۰/۷۳*	۱/۴*	۲/۰۴*
خطا	۶۴	۰/۱۵	۰/۰۵	۰/۱۹	۰/۱۸	۰/۵۷	۰/۶۲
ضریب تغییرات		۲۱/۷۵	۱۲/۲۶	۴۳/۷۸	۳۸/۰۷	۳۱/۴۷	۴۲/۶۹

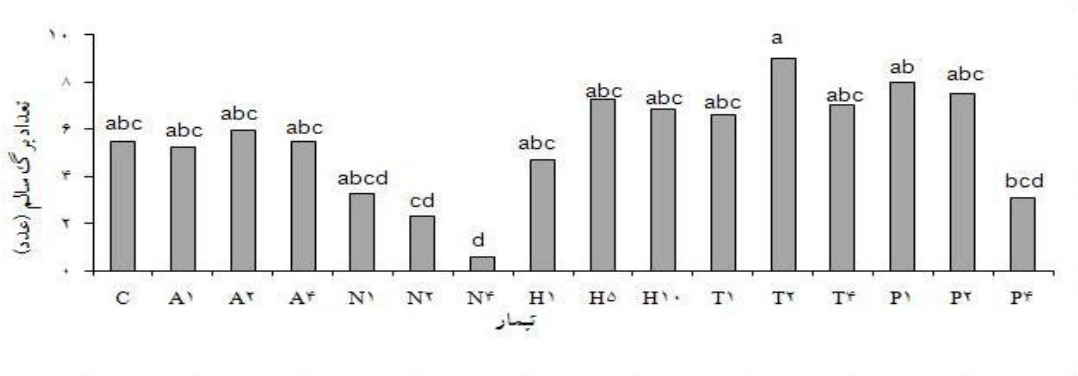
* ns معنی‌دار و غیرمعنی‌دار در سطح احتمال ۵ ٪



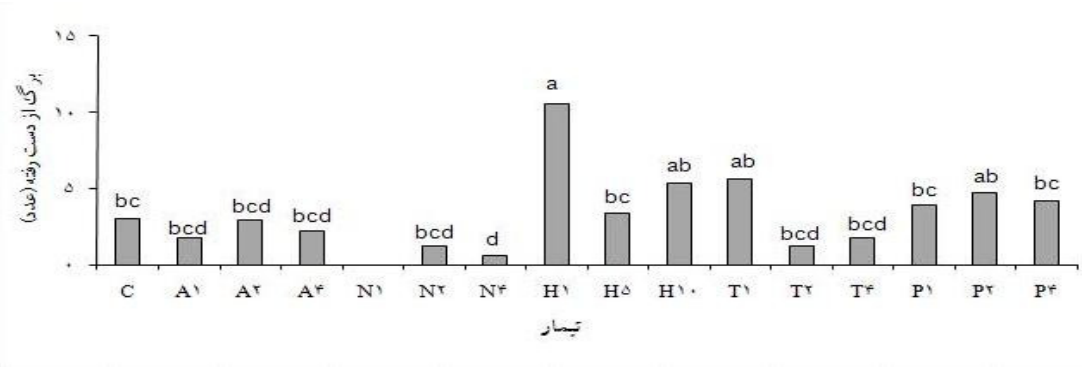
نمودار-۱- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد ریزوم



نمودار-۲- اثر تیمارهای مختلف بر طول ریزوم (سانتی متر)



نمودار-۳- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد برگ سالم



نمودار-٤- اثر تیمارهای مختلف بر تعداد برگ از دست رفته

ساقه مربوط به تیمار ۴ میلی گرم در لیتر نفتالین استیک اسید بود. بیش ترین طول ساقه نیز مربوط به شاهد بود (جدول شماره ۲).

٤- تعداد و طول ریشه

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد که بین تیمارها از لحاظ تعداد و طول ریشه نیز اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول شماره ۱). با وجود عدم وجود اختلاف معنی دار بین تیمار ها بیش ترین تعداد و طول ریشه به وسیله غلظت ۲ ماکرومولار از پاکلوبوترازول تولید شد.

بحث

عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای آزمایشی در رابطه با شاخص‌های طول و تعداد ساقه و نیز تعداد و طول ریشه نسبت به شاهد نشان دهنده این امر می باشد که مواد به کاربرده شده تأثیر مثبتی در تشکیل و طویل شدن ساقه ندارند. البته غلظت‌های بالاتر اسیدآبسزیک و پاکلوبوترازول تعداد و طول ساقه و تعداد و طول ریشه را نسبت به شاهد کاهش دادند و به نظر می‌رسد این مواد با خاصیت بازدارندگی رشد باعث کاهش تشکیل و طویل

جدول ۲- مقایسه میانگین تأثیر تیمارهای مختلف روی شاخص‌های مورد مطالعه

تیمار	تعداد ساقه (عدد)	طول ساقه (سانتی متر)
C	۲/۳۶ abc	۳/۸۷a
A1	۲/۶ abc	۳/۴۶a
A2	۳/۵۸ abc	۳/۱۵a
A4	۲/۰۹ abc	۳/۱۱a
N1	۱/۹۶ bc	۲/۹۶a
N2	۲/۷۴ abc	۲/۸۵a
N4	۱/۷۲ c	۳/۲۶a
H1	۴/۳۴ a	۳/۲۶a
H5	۲/۷۸ ab	۳/۵۴a
H10	۳/۴۶ abc	۳/۳۸a
T1	۴/۱۲ab	۲/۷۴a
T2	۲/۷ abc	۳/۵ a
T4	۱/۹۳ bc	۳/۱۵ a
P1	۲/۷۴ abc	۳/۷ a
P2	۳/۱۱ab	۳/۴۲a
P4	۲/۱۲ abc	۲/۶۳a

* اعداد دارای حروف مشابه در یک ستون از نظر آماری معنی‌دار نیستند

شدن آنها شده اند. هوکر و تورپ[1] (۱۹۹۸) با استفاده از ریشه‌های کشت شده گوجه‌فرنگی، مشاهده کردند که اسیدآبسزیک از آغازش و ظهور ریشه‌های جانبی جلوگیری می‌کند (جورج و همکاران، ۲۰۰۸). کاهش طول ساقه توسط پاکلوبوترازول با تعدیل در اندازه ساختارهای سلولی متعددی صورت می‌گیرد و این بسته به گونه گیاهی و غلظت مورد استفاده از این ماده متغیر است (بروا و زلاتو[2]، ۲۰۰۰)؛ همچنین با فزایش غلظت تیدیازرون نیز تعداد و طول ریشه و تعداد و طول ساقه کاهش یافته است.

قبلاً نیز ثابت شده بود که تیدیازورون از طویل شدن ساقه در آزالیا جلوگیری می‌کند و سطوح بهینه آن برای باززایی شاخه وابسته به ژنوتیپ گیاه و نوع ریزنمونه می‌باشد (توماس و گرتنر[3]، ۲۰۰۳).

تبدیل شاخه‌های القا شده به گیاه کامل توسط تیدیازرون با مشکلاتی از قبیل طویل شدن ضعیف شاخه و ریشه‌زایی ناکافی مواجه است (لو[4]، ۱۹۹۳). تاثیر تیدیازرون روی گیاه به عوامل متعددی از قبیل غلظت،

1- Hooker & Thoper
2- Berova & Zlatev
3- Tomsone & Gertnere
4- Lu

مدت زمان تیمار و مرحله تیمار گیاه بستگی دارد (هلوی و مایاک[1]، ۱۹۸۱).

در این پژوهش مشخص گردید که بیش ترین تعداد ریزوم در تیمار ۴ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید تولید می‌گردد (نمودار شماره ۱). حمیداوغلی و همکاران[2] (۲۰۰۷) نیز گزارش کرده اند که استفاده از نفتالین استیک اسید سبب تولید ریزوم شده و تعداد ریزوم تولید شده را نسبت به شاهد افزایش داده است.

همچنین مطالعات محققان نشان داد که بیش ترین برگ سالم مربوط به تیمار ۲ ماکرومولار تیدیازرون بوده و کم ترین آن مربوط به تیمارهای ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر نفتالین استیک اسید می‌باشد (نمودار شماره ۳). همچنین با افزایش غلظت تیدیازون تعداد برگ از دست رفته کاهش یافت. در طی پیری، آنزیم کلروفیلاز اولین آنزیمی است که باعث تجزیه کلروفیل a وb می‌گردد، در طی این فرآیند کلروفیل b تجزیه شده و به کلروفیل a تبدیل می‌شود و نسبت کلروفیل a به b افزایش می یابد (موتی و همکاران، ۲۰۰۶). سیتوکنین ها آنزیم NADH پروتوکلروفیل ردوکتاز که آنزیم دخیل در بیوسنتز کلروفیل است، را فعال کرده و تلفات کلروفیل را کاهش می‌دهند (زاوالتا مانکرا و همکاران[3]، ۱۹۹۱). بیش ترین برگ از دست رفته مربوط به تیمار هینوکیتیول و کم ترین آن مربوط به تیمار نفتالین استیک اسید بود (نمودار شماره ۴). یافته‌ها نشان می‌دهد که واکنش توقف رشد ترکیبات مربوط به هینوکیتیول شاید معمول ترین فعالیت بیولوژیکی آن باشد و حداقل قسمتی از عمل توقف رشد ایجاد شده با آن مربوط به کاهش مقدار کلروفیل می باشد (ساکاگامی و همکاران[4]، ۲۰۰۰). در آزمایشی معلوم شده بود که نفتالین استیک اسید از ریزش برگ ها و میوه‌های هسته دار جلوگیری می‌کند و سبب به تاخیر انداختن پیری برگ در مخروطیان می‌گردد (آرتکا[5]، ۱۹۹۶).

1- Helvy & Mayak
2 - Hamidoghli *et al.*
3- Zavaleta-Mancera *et al.*
4- Sakagami *et al.*
5- Arteka

منابع

1. Arteca, R.N. 1996. Plant growth substance: principle and application. Chapman and Hall, 332 p.

2. Berova, M., and Zlatev, Z. 2000. Physiological response and yield of paclobutrazol treated tomato plants (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Plant Growth Regulation, 30: 117–123.

3. Capelle, S.C, Mok, D.W.S., Kirchner, S.C., and Mok, M.C. 1983. Effects of thidiazuron on cytokinin autonomy and the metabolism of N6-(D2-isopentenyl) [8-14C] adenosine in callus tissues of *Phaseolus lunatus* L. Plant Physiology, 73: 796–802.

4. Davis, T.D., Steffens, G.L., and Sankhla, N. 1988. Triazol plant growth regulator. Horticultural Review, 10: 63-105.

5. Gabryszewska, E., and Hempel, M. 2009. The influence of cytokinins and auxins on Alstroemeria in tissue culture. Acta Horticulture, 167: 295-300.

6. George, E.F., Hall, M.A., and Declerk, G. 2008. Plant propagation by tissue culture. Springer, 504.

7. Gill, R., and Saxena, P.K. 1993. Somatic embryogenesis in *Nicotiana tabacum* L.: induction by TDZ of direct embryo differentiation from cultured leaf discs. Plant Cell and Reproduction, 12: 154-159.

8. Hamidoghli, Y., Bohloli, S., and Hatamzadeh, A. 2007. *In vitro* propagation of Alstroemeria Using rhizome explants derived *in vitro* an in pot plants. African Journal of Biotechnology, 6 (18): 2147-2149.

9. Helvy, A.H., and Mayak, S. 1981. Senscence and postharvest physiology of cut flowers. Horticultural Review, 3: 59-143.

10. Hooker, T.S., and Thoper, T.A. 1998. Effects of fluridone and abscisic acid on lateral root initiation and root elongation of excised tomato root cultures *in vitro*. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 52: 199-203.

11. Hoshino, Y., Kashihara, Y., Hirano, T., Murata, N., and Shinoda, K. 2009. Plant regeneration from suspension cells induced from hypocotyls derived from interspesific cross Alstroemeria × *A. magenta* and transformation with *Agrobacterium tumefacins*. Hokkaido University, 21p.

12. Izumi, K., Kamiya, Y., Sakurai, A., Oshir, H., and Takahashi, N. 1985. Studies the site of action of new plant growth retardant (E)-1-(4-chlorophenyl)-4, 4-dimethyl-2-(1, 2, 4-trazoles-1-penten-3-01) (SS-3307) and comparative effects of its seterioisomers in a cell free system from *Cucurbita maxima.* Plant Cell Physiology, 26: 821-827.

13. Kefi, S., Pavlista, A.D., Read, P., and Kachaman, S.D. 2000. Comparsion of TDZ and two nitrogo-anidines to kinetin on Potato micro tuberization *in vitro* under short and long days. Journal of Plant Growth Regulation, 19: 429- 436.

14. Kumar, S., Kashyap, M., and Sharma, D.R. 2005. *In vitro* regeneration and bulblet growth from lily bulb scale explants as affected by retardants, sucrose, and irradiance. Biologica Plantarum, 48(4): 629- 632.

15. Lu, C.Y. 1993. The use of TDZ in tissue culture. *In Vitro* Cell Development Biology, 29: 92-96.

16. Murthy, B.N., Murch, S.J., and Praveen, K. 1998. Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. Biologica Plantarum, 34: 267-275.

17. Mutui, T.M., Emangor, V.E., and Hutchinson, M.J. 2006. The effect of giberlin$_{4+7}$ on vase life and flower quality of Alstomeria cut flower. Journal of Plant Growth Regulation, 48: 207-214.

18. Pinhero, R.G., Rao, M.P., Paliyath, G., Mur, D.P., and Fletcher, R.A. 1997. Changes in activities of antioxidant enzymes and their relationship to genetic and paclobutrazol induced chilling tolerance of maize seedling. Plant Physiology, 114: 695-704.

19. Rabbany, A.B.M.G., and Mizutani, F. 1998. Effect of tropolon and hinokitiol on *in vitro* activities of ACC syntase and oxidase in wounded winter squash mesocarps, Journal of Japan Society Horticultural Science, 67:213-215.

20. Ri, S. 1951. A pharmacological study of hinokitiol; 1st Report. On the toxity and the local action of hinokitiol. Niiga. Iga. Zastava, 65: 566–72.

21. Sakagami, Y., Inamori, Y., Isoyama, N., Tsujibo, H., Okabe, T., Morita, Y., and Ishida, N. 2000. Phytogrowth-Inhibitory activities of β-dolabrin and γ-thujaplicin, hinokitiol-related compounds and constituents of *Thujopsis dolabrata*. Bio Pharmalogical Bulletin, 23 (5): 645-648.

22. Saniewska, A., and Saniewski, M. 2007. The inhibitory effect of tropolone and hinokitiol on the mycelium growth of phoma narcissi *in vitro*. Acta Agronomy, 60 (1): 107-112.

23. Saniewski, M., Nowak, J., and Rudnicki, R. 1974. Studies on the physiology of Hyacinth bulb (*Hyacinthus orientalis* L.). IV. Hormonal regulation of induction of roots and bulblets in *Hyacinthus orientalis* L. grown in culture. Plant Science Letter, 2: 373- 376.

24. Sebastian, B., Alberto, G., Emilio, A.C., Jose, A.F., and Juan, A.F. 2002. Growth, development and color response of potted Dianthus caryophyllus *cv.* Mondriaan to paclobutrazol treatment. Scientia Horticulturae, 1767: 1-7.

25. Tomsone, S., and Gertnere, d. 2003. In vitro shoot regeneration from flower and leaf explants in Rhododendron. Biologica Plantarum, 46 (3): 463-465.

26. Yim, K.O., Kown, Y.W., and Bayer, D.E. 1997. Growth response and allocation of assimilates of rice seedlings toby pacloburazol and gibberellin treatment. Journal of Plant Growth Regulation, 16: 35-41.

27. Zavaleta-Mancera, H.A., Franklin, K.A., Ougham, H.J., Thomas, H., and Scott, I.M. 1999. Regreening of senescent Nicotiana leaves I. Reappearance of NADPH-protochlorophyllide oxidoreductase and light-harvesting chlorophyll a/b-binding protein. Journal of Experimental Botanica, 340 (50): 1677–1682.